

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Borka B. Mandić

**UTICAJ PRIMENE
LASERA MALE SNAGE U RANOM
POSTOPERATIVNOM PERIODU NA
OSEOINTEGRACIJU IMPLANTATA**

doktorska disertacija

Beograd, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF DENTISTRY

Borka B. Mandić

**INFLUENCE OF AN EARLY
POSTOPERATIVE LOW-LEVEL LASER
TREATMENT ON THE
OSSEOINTEGRATION OF DENTAL
IMPLANTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

Mentor: Prof. dr Aleksa Marković
redovni profesor
Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije: Prof. dr Snježana Čolić
redovni profesor
Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Radojica Dražić
redovni profesor
Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Siniša Mirković
redovni profesor
Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Datum odbrane:

Imala sam izuzetnu čast i veliko zadovoljstvo da mi u naučnoistraživačkoj ekspediciji, čiji je rezultat ova doktorska disertacija, učitelj i mentor bude prof. dr Aleksa Marković. Njegovo iskustvo, znanje i bezrezervna podrška u prevazilaženju svih prepreka bili su za mene neprocenjivo značajni. Beskrajno sam mu zahvalna na tome.

Na posvećenom vremenu i korisnim stručnim sugestijama kojima su doprineli konačnom izgledu ovog rada - zahvaljujem se prof. dr Snježani Čolić, prof. dr Radojici Dražiću i prof. dr Siniši Mirkoviću.

Izlet u polje biohemije za mene je bio veoma lepo iskustvo zahvaljujući divnom timu s prof. dr Tatjanom Todorović i doc. dr Ivanom Dožićem na čelu, u kome su bili i mr Biljana Anđelski Radičević, Ivan Jovanović, Aleksandra Stojković i Mirjana Petrović. Od prvog trenutka u njima sam stekla prijatelje koji su mi svojim znanjem i velikim iskustvom pomogli da se izborim sa svim dilemama i teškoćama koje sam imala na ovom istraživačkom zadatku.

Neizmerno sam zahvalna prof. dr Branki Popović za savete i pruženu podršku. Entuzijazam i razumevanje koje je pokazala u trenucima kada se dovodilo u pitanje celo moje istraživanje presudno su uticali na to da istrajem u započetom radu.

Prof. dr Zoranu Laziću dugujem veliku zahvalnost za pomoć i podršku tokom istraživanja.

Zahvaljujem se kolektivu Klinike za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta na podršci tokom izrade ove disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem mojoj sestri i kolegici Miški, koja mi je pomogla u prikupljanju podataka i kontroli pacijenata. Kao i u svakodnevicu, bile smo savršen tim. Svojim roditeljima Dragani i Bojanu zahvalna sam što su uvek bili tu da mi pruže i roditeljsku i stručnu pomoć. Mojim voljenima - sestri Bojani, suprugu Srđanu i sinu Aleksi - zahvaljujem se na ljubavi i strpljenju, i na tome što su me slušali i onda kad im nije bilo do toga.

REZIME

Savremena stomatološka praksa teži da skрати vreme potrebno za rehabilitaciju pacijenata, pa se tako i u implantologiji u sve većem broju indikacija nastoje primenjivati ubrzani protokoli ugradnje i opterećenja implantata. Istraživanja u ovoj oblasti su zbog toga usmerena na mogućnosti povećanja predvidljivosti ovakvih terapijskih modaliteta. Poseban problem predstavljaju lokalni ili sistemski faktori rizika koje prati otežano zarastanje.

Unapređenje karakteristika samog implantata, uticaj na stanje kosti implantatnog ležišta i njenog potencijala za zarastanje, na mehaničku stabilnost i opterećenje implantata, kao i korišćenje adjuvantnih tretmana poput koštane augmentacije, osteogenih bioaktivnih molekula, pa i biofizičke stimulacije, u koju se svrstava i terapija laserom male snage, neke su od strategija kojima pokušavamo preduprediti eventualne komplikacije implantatne terapije i učiniti je predvidljivijom. Budući da brojna istraživanja ukazuju na stimulatorno dejstvo primene lasera male snage u regeneraciji koštanog tkiva, uticajem na ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i adheziju, od značaja bi bilo ispitati da li i u kojoj meri benefit ove neinvazivne terapijske metode postoji i u kompleksnom i relativno sporom procesu oseointegracije dentalnih implantata.

Tako su definisani ciljevi ovog istraživanja:

- 1) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na stabilnost dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine;
- 2) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na aktivnost alkalne fosfataze u periimplantatnoj tečnosti dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine;
- 3) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na rani uspeh oseointegracije dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine.

Prateći *split-mouth* dizajn, samourezujući implantati (n=44) su ugrađeni u posteriorne regije gornje vilice 12 pacijenata. Slučajnim izborom jednoj od strana vilice je dodeljena dodatna terapija laserom male snage (test grupa), dok je druga strana bila placebo (kontrolna grupa). Za terapiju laserom male snage, korišćen je galijum-aluminijum-arsenid (Ga-Al-As) laser (*Medicolaser 637, Technoline, Beograd, Srbija*) talasne dužine 637nm, snage 40mW neprekidnog režima rada. Tretman laserom male snage se sprovodio neposredno po ugradnji, a zatim svakodnevno tokom narednih 7 dana. Ukupna zračna doza po tretmanu je bila 6,26 J/cm² po implantatu. Praćeni su: stabilnost implantata, aktivnost alkalne fosfataze (ALP) i procenat rane uspešnosti implantatne terapije. Period praćenja je bio šest nedelja.

Rezultati istraživanja su pokazali da su zračeni implantati imali veću stabilnost u odnosu na kontrolne tokom celog perioda praćenja, a statistički značajno veća stabilnost bila je u petoj postoperativnoj nedelji (*T-test* za vezane uzorke, p=0.030). Razlika u aktivnosti ALP između grupa nije bila statistički značajna ni u jednoj tački posmatranja (*T-test* za vezane uzorke, p>0,05). Procenat rane uspešnosti terapije implantatima je bio 100%, bez obzira na primenjenu TLMS.

Svakodnevna primena TLMS u prvoj postoperativnoj nedelji nije pokazala značajan uticaj na oseointegraciju samourezujućih implantata u kost male gustine bočne regije gornje vilice. Primena implantata samourezujućeg makrodizajna u kosti male gustine bi mogla predstavljati predvidljivu terapijsku proceduru sa visokim procentom rane uspešnosti bez obzira na primenjenu TLMS.

Ključne reči: terapija laserom male snage; mala gustina kosti; oseointegracija; samourezujući implantati, alkalna fosfataza

Naučna oblast: stomatološke nauke

Uža naučna oblast: oralna hirurgija

ABSTRACT

As contemporary dental practice strives at reducing the time for patients' rehabilitation, dental implantology develops accelerated protocols of implantation and loading of dental implants. Research in this field has been focused on the possibilities of making these treatment modalities more predictable. Risk factors of local and systemic origin present particular task as they are associated with impaired healing.

Improvement of implant characteristics, of the condition of the host bony bed and its healing potential, influence on the mechanical stability and implant loading, as well as the use of adjuvant treatments such as bony augmentation, osteogenic bioactive molecules, and biophysic stimulation that includes low-level laser treatment, have been some of the strategies to prevent possible complications of dental implant therapy and to make it more predictable. As literature data suggest that low-level laser treatment has stimulative effect on the regeneration of bone tissue, influencing cellular proliferation, differentiation and adhesion, it would be of great importance to explore the potential benefit of this noninvasive treatment modality on the complex and relatively slow process of osseointegration of dental implants.

The aims of this research were:

- 1) To explore the influence of the early postoperative low-level laser treatment on the stability of dental implants inserted into low-density bone;
- 2) To explore the influence of the early postoperative low-level laser treatment on the alkaline phosphatase activity in the peri-implant sulcular fluid of dental implants inserted into low-density bone;
- 3) To explore the influence of the early postoperative low-level laser treatment on the early success of osseointegration of dental implants inserted into low-density bone.

Following split-mouth design, self-tapping implants (n=44) were inserted in the posterior maxilla of 12 patients. One jaw side randomly received low-level laser treatment (test group), while the other side was placebo (control group). For low-level laser treatment, a 637nm gallium-aluminum-arsenide (Ga-Al-As) laser (*Medicolaser 637, Technoline, Belgrade, Serbia*) with an output power of 40mW and continuous wave was used. Low-level laser therapy was performed immediately after the surgery and then repeated every day in the following 7 days. Total irradiation dose *per treatment* was 6,26 J/cm² *per implant*. Study outcomes were: implant stability, alkaline-phosphatase (ALP) activity and early implant success rate. Follow-up was 6 weeks.

Results have shown that irradiated implants achieved higher stability compared with controls during the entire follow-up and the difference reached significance in the fifth postoperative week (paired T-test, p=0.030). Difference in ALP activity between the groups was insignificant in any observation point (paired T-test, p>0.05). The early implant success rate was 100%, regardless of low-level laser application.

Low-level laser therapy applied daily during the first postoperative week expressed no significant influence on the osseointegration of self-tapping implants placed into low density bone of posterior maxilla. Placement of self-tapping macro-designed implants into low density bone could be predictable therapeutic procedure with high early success rate regardless of the usage of low-level laser.

Key words: low-level laser therapy; low-density bone; osseointegration; self-tapping implants; alkaline-phosphatase

Scientific field: Dentistry

Specialized field: Oral Surgery

SADRŽAJ

I UVOD.....	1
1. OSEOINTEGRACIJA TITANIJUMSKIH IMPLANTATA.....	3
1.1 POJAM OSEOINTEGRACIJE.....	3
1.2 FIZIOLOGIJA OSEOINTEGRACIJE TITANIJUMSKIH IMPLANTATA.....	3
1.2.1. HEMOSTAZA.....	4
1.2.2. INFLAMATORNA FAZA.....	5
1.2.3. PROLIFERATIVNA FAZA OSEOINTEGRACIJE.....	6
1.2.3.1. OSTEOGENEZA.....	7
1.2.4. FAZA REMODELACIJE KOSTI.....	10
1.3. ALKALNA FOSFATAZA - INDIKATOR RANE OSTEOBLASTNE DIFERENCIJACIJE I MARKER AKTIVNOSTI OSTEOBLASTA.....	15
1.4. KLINIČKA EVALUACIJA OSEOINTEGRACIJE DENTALNIH IMPLANTATA....	17
1.4.1. POJAM STABILNOSTI IMPLANTATA.....	18
1.4.1.1. PRIMARNA STABILNOST IMPLANTATA.....	18
1.4.1.2. SEKUNDARNA STABILNOST IMPLANTATA.....	22
1.4.2. MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA - METOD ANALIZE REZONANTNE FREKVENCije.....	25
1.4.3. PERIIMPLANTATNA SULKUSNA TEČNOST - DIJAGNOSTIČKI POTENCIJAL.....	27

2. TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE.....	29
2.1. POJAM I KARAKTERISTIKE TERAPIJE LASEROM MALE SNAGE.....	29
2.2. MEHANIZAM DEJSTVA LASERA MALE SNAGE I BIOLOŠKI ODGOVOR TKIVA.....	30
2.3. TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE - PREGLED LITERATURE.....	33
2.3.1. UTICAJ LASERA MALE SNAGE NA KOŠTANE ĆELIJE - <i>IN VITRO</i> STUDIJE.....	33
2.3.2. UTICAJ LASERA MALE SNAGE NA ZARASTANJE KOŠTANOG TKIVA I VEZU TITANIJUMSKOG IMPLANTATA I KOSTI - EKSPERIMENTALNE STUDIJE NA ANIMALNOM MODELU.....	34
2.3.3. PRIMENA TERAPIJE LASEROM MALE SNAGE U KLINIČKOJ PRAKSI.....	37
II NAUČNA OSNOVA PROBLEMA.....	39
III CILJEVI.....	43
IV MATERIJAL I METOD.....	45
4.1. PACIJENTI.....	47
4.2. HIRURŠKI PROTOKOL.....	49
4.3. RADIJACIONI PROTOKOL.....	55
4.4. PROCENA OSEOINTEGRACIJE IMPLANTATA.....	57
4.4.1. ANALIZA REZONANTNE FREKVENCIJE.....	57
4.4.2. PROCENA AKTIVNOSTI OSTEOLASTA I INTENZITETA REMODELACIJE KOSTI.....	59

4.4.2.1. PRIKUPLJANJE PERIIMPLANTATNE SULKUSNE TEČNOSTI.....	59
4.4.2.2. MERENJE AKTIVNOSTI ALKALNE FOSFATAZE.....	60
4.4.3. PROCENA RANOG USPEHA TERAPIJE.....	61
4.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	61
V REZULTATI.....	62
5.1. STABILNOST IMPLANTATA.....	64
5.2. AKTIVNOST ALKALNE FOSFATAZE.....	68
5.3. RANI USPEH TERAPIJE.....	71
VI DISKUSIJA.....	72
VII ZAKLJUČCI.....	79
LITERATURA.....	81

UVOD

Uspešnost terapije dentalnim implantatima meri se kvalitetom stvorenog koštano-implantatnog spoja koji treba tokom vremena da odoleva funkciji (1-5). Ubrzani protokoli ugradnje i opterećenja implantata, kao i evidentno proširenje indikacija za primenu ovog vida terapije kod pacijenata kod kojih zbog prisustva različitih lokalnih ili opštih faktora očekujemo otežano zarastanje, dovode do potrebe za povećanjem predvidivosti uspeha ovog terapijskog modaliteta.

Istorija lečene parodontalne bolesti, prisustvo parafunkcija i okluzalne traume, loše oralno-higijenske navike su neki od lokalnih faktora rizika za uspešnu terapiju implantatima. Starost, pušenje, dijabetes, osteoporoza, imunosupresija različite etiologije, kardiovaskularna bolest, hipotireoidizam, predstavljaju opšta stanja koja su relativna kontraindikacija za ugradnju implantata, imajući u vidu da ih može pratiti otežano zarastanje.

Eventualne komplikacije do kojih bi moglo doći u ovakvim slučajevima se nastoje preduprediti na različite načine: unapređenjem samog implantata (njegovog dizajna i hemijskog sastava, topografije površine, materijala, oblika, dužine, prečnika, tretiranjem i presvlačenjem površine), uticajem na stanje kosti implantatnog ležišta i njenog potencijala za zarastanje, uticajem na mehaničku stabilnost i opterećenje implantata, korišćenjem adjuvantnih tretmana poput koštane augmentacije, osteogenih biaktivnih molekula i farmakoloških agenasa poput statina i bisfosfonata, pa i biofizičke stimulacije (6), u koju se svrstava i terapija laserom male snage.

Terapija laserom male snage (TLMS) podrazumeva primenu svetlosne energije laserskog zraka vidljivog i infracrvenog spektra u zarastanju tkiva i smanjenju bola. Iako u medicini decenijama afirmisana, TLMS poslednjih godina sve veću primenu nalazi i u stomatologiji kao efikasan metod za lečenje različitih stanja. Samo neke od terapijskih primena LMS su i: smanjenje bola nakon stomatoloških zahvata, smanjenje bola kod apscesa i ubrzanje maturacije apscesa, smanjenje dentinske hipersenzitivnosti, smanjenje krvarenja, edema i postoperativnog bola i pospešivanje zarastanja nakon oralno-hirurških intervencija, ubrzanje zarastanja rana oralne

mukoze i gingive različite etiologije, ubrzanje ortodontskog pomeranja zuba i smanjenje bola u postaktivacionom periodu, smanjenje bola kod hroničnih temporomandibularnih poremećaja (7-9).

Stimulatorno dejstvo TLMS na koštano zarastanje nakon ekstrakcije zuba, periapikalne hirurgije, preloma vilica i distrakcione osteogeneze je dobro dokumentovano u literaturi (10-16). Smatra se da se ovaj efekat između ostalog postiže i stimulacijom mitohondrijalnog transportnog lanca elektrona, te posredno poboljšanjem mikrocirkulacije, što vodi boljoj oksigenaciji, ishrani i regeneraciji ćelija (17).

1. OSEOINTEGRACIJA TITANIJUMSKIH IMPLANTATA

1.1. POJAM OSEOINTEGRACIJE

Oseointegracija implantata je termin kojim se označava kliničko stanje koje dozvoljava funkcionalno opterećenje implantata (2, 3), a podrazumeva direktan histološki kontakt implantata sa kosti (4, 5). Oseointegracija se smatra osnovnim preduslovom uspeha terapije dentalnim implantatima.

1.2. FIZIOLOGIJA OSEOINTEGRACIJE TITANIJUMSKIH IMPLANTATA

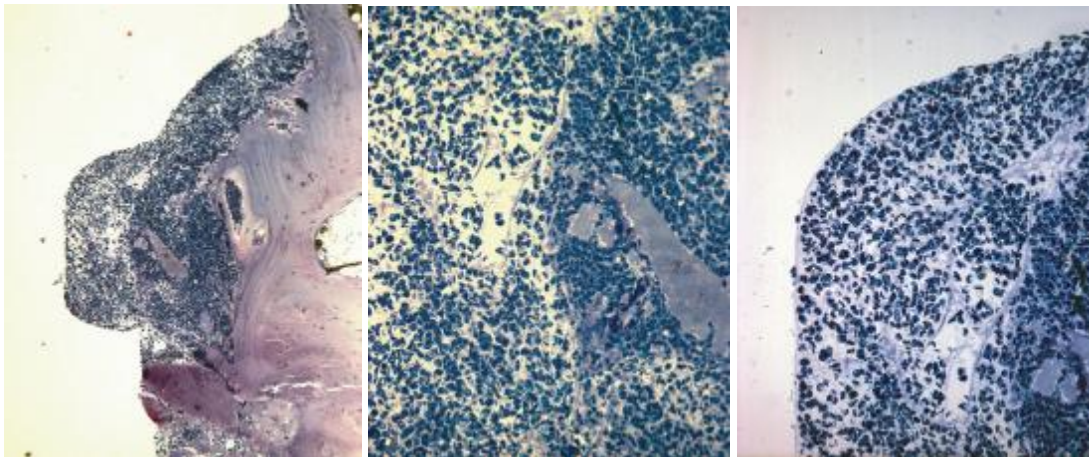
Zarastanje rana, pa tako i koštane rane oko dentalnog implantata, precizno je koordinisan i organizovan reparatorni mehanizam organizma (18). Ključnu ulogu u ovom procesu imaju ćelije, koje komuniciraju posredstvom različitih molekula i za njih specifičnih receptora na ćelijskoj membrani (19).

Koštano zarastanje oko implantata prolazi kroz četiri faze: hemostazu, inflamatornu fazu, proliferativnu fazu i fazu remodelacije (19).

1.2.1. HEMOSTAZA

Hemostaza (eksudativna faza) počinje hirurškom traumom, najpre usled preparacije ležišta implantata borerom, a zatim i same ugradnje implantata (Slika 1a). Ova faza traje od nekoliko minuta do nekoliko sati.

Povredom integriteta kosti, matriksni proteini, faktori rasta i diferencijacije, prisutni u koštanom matriksu postaju solubilni i aktivni. Odmah po ugradnji, površina implantata interaguje sa jonima i molekulima vode. Jone prate plazma proteini poput albumina, globulina ili fibrina. Proces adsorpcije proteina je veoma intenzivan, a njihova koncentracija na površini implantata je hiljadu puta veća nego u okolnoj sredini (20).



Slika 1. a) Unutrašnjost rane ispunjena koagulumom 2h nakon ugradnje implantata (dekalcifikovani isečak, originalno uvećanje x 50). b) Detalj sa slike a) - Centralni deo šupljine rane ispunjen koagulumom 2h nakon ugradnje implantata. Uočavaju se ostaci koštanog tkiva okruženi krvnim elementima (dekalcifikovani isečak, originalno uvećanje x 200). c) Detalj sa slike a) - Gornji deo šupljine rane ispunjen koagulumom. Uočava se fibrin i mnoštvo eritrocita (dekalcifikovani isečak, originalno uvećanje x 200). *Preuzeto iz: Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. Clin Oral Impl Res 2004;15:381-92 (22).*

Prvi proteini koji se adsorbuju na površinu implantata su oni koji su prisutni u velikim koncentracijama u u krvi, kakav je slučaj sa albuminima. Njih postepeno

zamenjuju proteini manje koncentracije, ali većeg afiniteta za površinu implantata, kakvi su vitronektin ili fibronektin. Adsorpcija proteina zavisi od mnogobrojnih faktora: osobina proteina, osobina površine na koju se adsorbuju, kao i uslova sredine (19). Posredstvom adsorpcije proteina, ćelije se mogu vezivati za titanijumsku površinu implantata, a njihovo vezivanje u velikoj meri zavisi od ovog inicijalnog prekrivanja površine implantata proteinima krvi (21). Na mestima povrede krvnog suda, dolazi do agregacije trombocita i formiranja belog tromba koji sprečava dalje isticanje krvi iz krvnog suda. Aktivacijom i degranulacijom trombocita oslobađaju se brojni citokini, čime započinje inflamatorna faza.

1.2.2. INFLAMATORNA FAZA

Inflamatorna faza počinje oko deset minuta nakon hirurške intervencije i traje u prvim postoperativnim danima. Započinje oslobađanjem faktora rasta poput transformišućeg faktora rasta β (TGF- β), faktora rasta porekla trombocita (PDGF), osnovnog faktora rasta fibroblasta (bFGF) (19). Bradikinin oslobođen iz degranulisanih trombocita povećava vaskularnu permeabilnost za tečnost, serumske proteine i leukocite, a histamin svojim vazodilatatornim dejstvom dovodi do povećanja protoka krvi i indukuje hiperemiju. Inicijalna vazokonstrikcija iz faze hemostaze sada prelazi u vazodilataciju koja se klinički manifestuje kao crvenilo, otok i toplota predela rane. U najranijim fazama inflamacije se kao reakcija na nespecifične molekule bakterijskog porekla aktivira urođeni odbrambeni sistem, koga čine molekularni (npr. sistem komplementa) i celularni elementi: polimorfonuklearni leukociti i makrofagi. Budući da su polimorfonukleari kratkoživeće ćelije prisutne u akutnim ranama, njihovu ulogu kasnije preuzimaju limfociti i makrofagi. Njihova uloga je između ostalog i čišćenje rane od tkivnog debrija, nakon čega sekretuju angiogene i fibrogene faktore rasta.

1.2.3. PROLIFERATIVNA FAZA OSEOINTEGRACIJE

Proliferativna faza traje od nekoliko dana do nekoliko nedelja, a karakteriše je formiranje novog ekstraćelijskog matriksa i angiogeneza. Stimulisani od strane faktora rasta fibroblasta (FGF) koje sintetišu makrofagi, fibroblasti iz okolnog zdravog tkiva ameboidnim pokretima migriraju u krvni ugrušak.

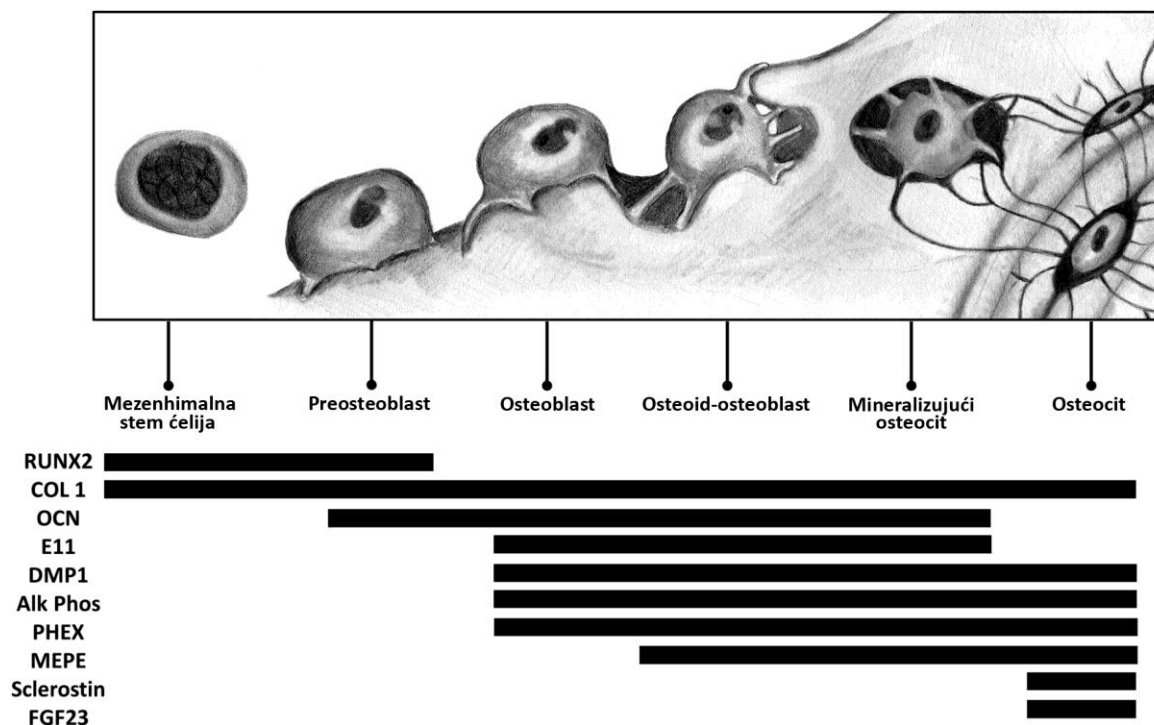
Sekretujući matriksne metaloproteinaze prave tunele unutar provizornog ekstraćelijskog matriksa fibrinskog ugruška, produkuju nerastvorljivi ćelijski fibronektin i druge nerastvorljive proteine ekstraćelijskog matriksa poput kolagena, vitronektina, dekorina i drugih proteoglikana, kojima zamenjuju raspadnuti prvobitni matriks krvog ugruška. Kretanje fibroblasta je dirigovano koncentracionim gradijentima faktora rasta koje produkuju makrofagi (PDGF, TGF- β , bFGF, faktor rasta vezivnog tkiva (CTGF)) (19).

Istovremeno, hipoksija stimuliše angiogenezu. Hipoksija privlači makrofage (23), koji preživljavaju uslove hipoksije prilagođavajući svoj metabolizam sintezi adenzin-tri-fosfata (ATP) nezavisnoj od prisustva kiseonika. Makrofagi oslobađaju vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), koji stimuliše sintezu prekursornih ćelija endotela i koji je hemotaktičan za ove ćelije. Angiogeni svojstva imaju još i faktori rasta poput PDGF iz trombocita i FGF iz makrofaga (19). VEGF dovodi do odvajanja pericita od spoljašnjeg zida krvog suda, a matriksne proteinaze koje periciti sintetišu vrše digestiju bazalne lamine oko krvnih sudova. Na taj način je omogućena migracija novih endotelnih ćelija na mesta manjeg parcijalnog pritiska kiseonika, na koja stižu hemotaksom, privučeni hemokinom porekla ćelija stome (SDF-1) koji sintetišu ćelije prisutne u rani (24). Proliferacijom, ćelije formiraju kondenzovane grupe i postavljaju se tako da formiraju tube koje se zatim povezuju sa postojećim krvnim sudovima.

1.2.3.1.OSTEOGENEZA

Angiogeneza je preduslov za osteogenezu jer do formiranja nove kosti dolazi samo u neposrednoj blizini krvnih sudova. Pored toga, neophodan uslov za formiranje nove kosti je i mehanička stabilnost sredine.

Koštani morfogeni proteini (BMP) koji se u rani pojavljuju nakon tri dana vezuju se za receptore na površini prekursora koštanih ćelija (25).



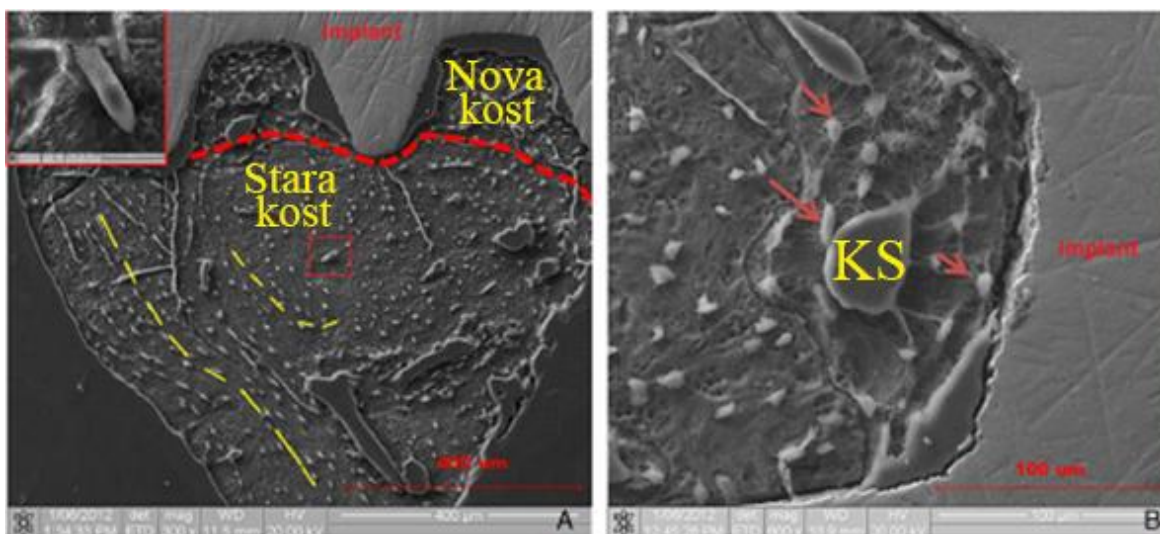
Slika 2. Diferencija osteocita. Precizan mehanizam diferencijacije je nepoznat, ali su detektovani specifični markeri koje eksprimiraju ćelije tokom procesa maturacije. RUNX2 = transkripcioni faktor sa runt vezujucim domenom 2, COL 1 = kolagen tip I, OCN = osteokalcin, DMP1 = kiseli fosfoprotein dentinskog matriksa 1, Alk Phos = alkalna fosfataza, PHEX = fosfat-regulišuća endopeptidaza na hromozomu X, MEPE = matriksni ekstracelularni fosfoglikoprotein, FGF23 = faktor rasta fibroblasta 23. Preuzeto iz: Compton JT, Lee FY. A Review of Osteocyte Function and the Emerging Importance of Sclerostin. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 2014;96(19):1659-68 (29).

Osteoprogenitorna ćelija se ne vezuje direktno za površinu implantata već posredstvom integrina i produkuje nerastvorljivi ćelijski fibronektin, neophodan za

vezivanje ćelije za titanijum (26). Nakon što je čvrsto vezana za površinu, postaje sekretorno aktivna i naziva se osteoblast. Kao molekularni marker, između ostalih, počinje da eksprimira i alkalnu fosfatazu (Slika 2).

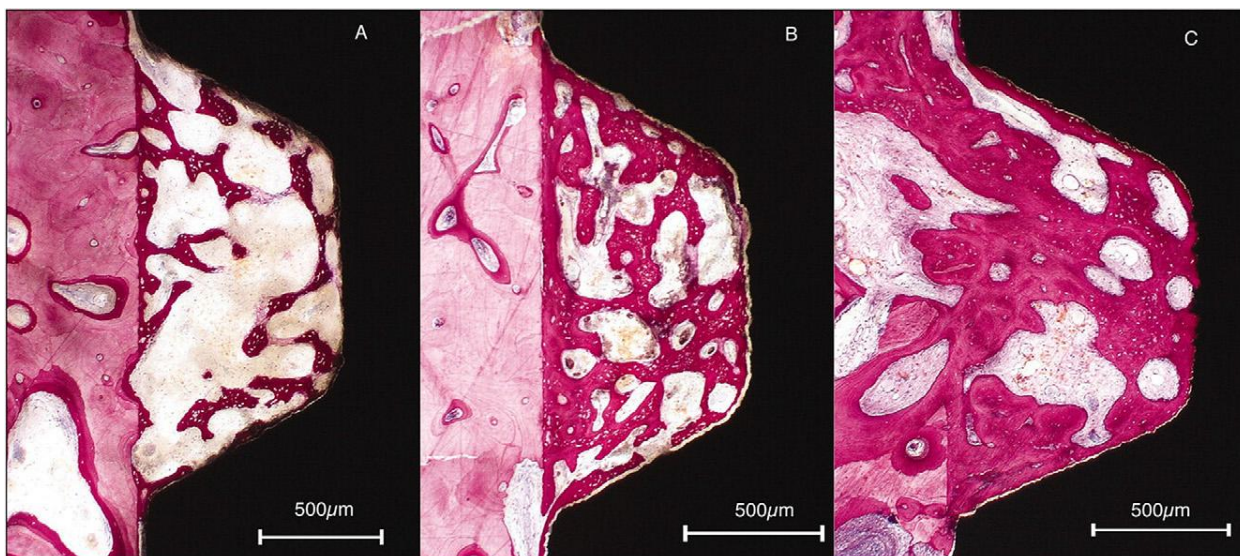
Osteoblasti vode poreklo od mezenhimalnih stem ćelija, za koje se smatra da su zapravo periciti u zidovima najmanjih krvnih sudova (27). Prekursori pericita su porekla ćelija koštane srži (28).

Osteoblasti započinju stvaranje nove kosti oko nedelju dana nakon ugradnje, sekrecijom kolagenog matriksa koji zatim mineralizuje hidroksiapatit. Prva kost koja se nakon povrede formira je nezrela ili fibrozna kost (Slike 3. i 4a). Histološki se karakteriše nasumičnim rasporedom kolagenih vlakana (Slika 3).

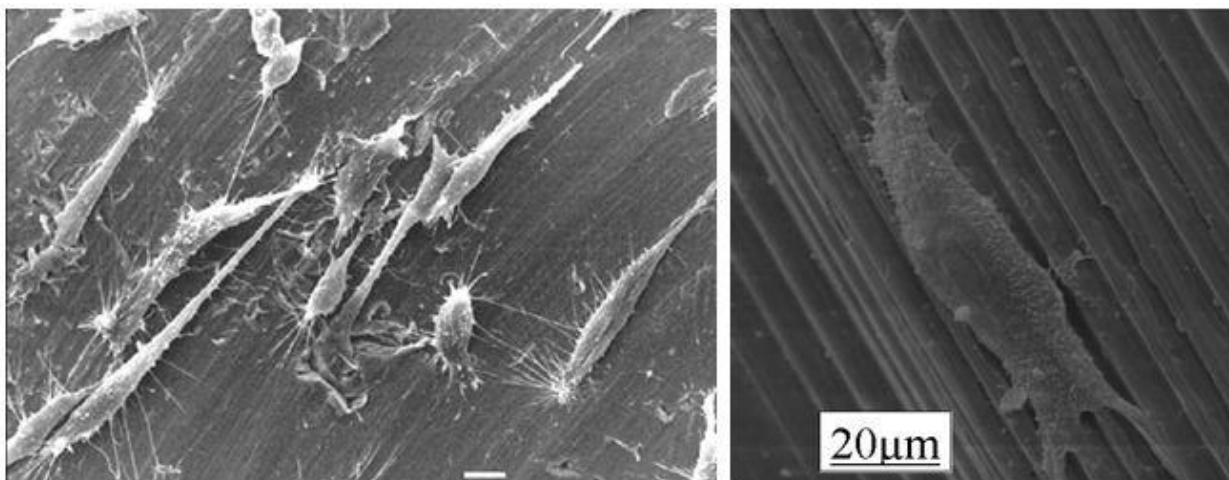


Slika 3. a) Na malom uveličanju skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM) moguće je videti izgled koštanog tkiva. Osteociti stare, zrele, kosti su dobro organizovani. (Crvena isprekidana linija označava granicu stare sa novom kosti; žutom isprekidanom linijom označeni su osteociti sa uređenim rasporedom za razliku od osteocita u novoj kosti (prisutna u predelu navoja implantata)). Neuređeno tkivo se sastoji od nemineralizovanog matriksa, krvnih sudova (u crvenom kvadratu na slici gore levo su prikazani krvni sudovi) i šupljine koštane srži (KS). b) Neuređeno raspoređeni osteociti između navoja implantata (osteociti su označeni strelicom). Ćelije su neorganizovane u novoformiranoj kosti, naročito između navoja implantata.

Nezrela kost se stvara duž postojećih koštanih površina i duž površine implantata, orijentisana prema žlebovima navoja (19) (Slike 3. i 5.). Pokazano je da je koštani debri nastao usled preparacije ležišta implantata važan u ranoj fazi formiranja kosti jer biva inkorporiran u trabekule nezrele kosti (30). Pripoji kosti za implantat u ovoj fazi nisu orijentisani da prime opterećenje, već su nasumični (19). Takođe, proces mineralizacije je intenzivan, ali i relativno neorganizovan i nije u neposrednoj vezi sa kolagenom (ekstrafibrilarnan).



Slika 4. Mezio-distalni isečak implantata i okolnih čvrstih tkiva. a) Nezrela kost je deponovana na koštanim zidovima šupljine rane i na površini implantata dve nedelje nakon ugradnje. Karakteriše je intenzivno prebojavanje mineralizovanog matriksa i brojni osteociti lokalizovani u lakunama. b) Nakon četiri nedelje nova kost nastavlja da se formira od koštanog ležišta prema površini implantata. Gustina ove koštane potke povećava se stvaranjem novih trabekula i deponovanjem zrele kosti, paralelno orijentisanih kolagenih vlakana. Prazan prostor između kosti i površine implantata je artefakt. c) Osam nedelja po ugradnji, u neposrednom kontaktu sa površinom implantata se uočava zrela kost paralelno orijentisanih kolagenih vlakana. Otpočeo je proces remodelovanja, zamena primarne kosti sekundarnim osteonima (strelice). Preuzeto iz: Buser D, Brogini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res* 2004;83:529-33 (31).



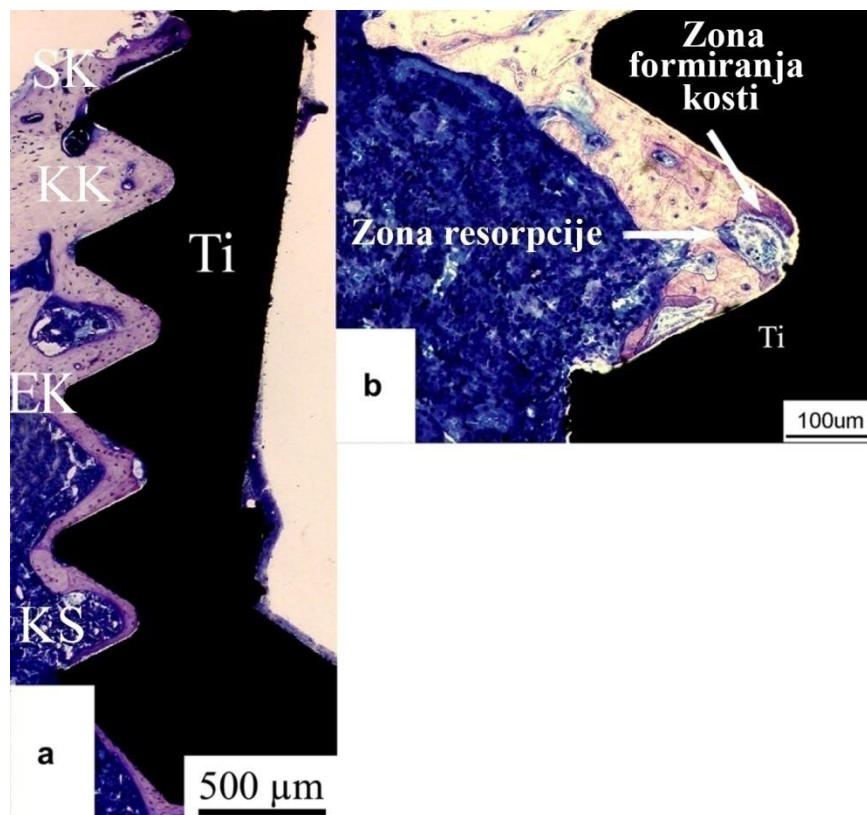
Slika 5. Pripajanje osteoblasta duž navoja titanijskog implantata. Preuzeto iz: Menezes GC, Elias CN, Attias M, Silva-Filho FC. Osteoblast Adhesion onto Titanium Dental Implants. *Acta Microscopica* 2003;12(1):13-20 (32).

1.2.4. FAZA REMODELACIJE KOSTI

Faza remodelacije počinje uklanjanjem nezrele kosti od strane osteoklasta. Oni se pojavljuju u rani nakon nekoliko dana i uklanjajući primarne kontakte implantata i kosti, stvaraju prostor za formiranje nove kosti (19) (Slika 6).

Nezrelu (fibroznu) kost zamenjuje lamelarna, koja se za razliku od nezrele fibrozne kosti koja je bila postavljena paralelno titanijskoj površini u žlebovima navoja, pripaja za vrhove makronavoja (19). Njene trabekule se obično vezuju za vrhove navoja implantata malim pločastim produžetkom, poput nožice. Ove trabekule obezbeđuju distribuciju okluzalnog opterećenja na okolnu kost i susedne zube ukoliko ih ima. Između regija insercije trabekula postoje nepokriveni delovi titanijske površine implantata. Kontakti implantata i kosti (engl. *bone-implant contact*) se mogu smanjivati tokom faze remodelovanja i obično posle nekog vremena održavaju pokrivenost oko dve trećine površine implantata (34). Uniformno orijentisani kristali apatita sada se formiraju unutar kolagenih vlakana (intrafibrilarna mineralizacija).

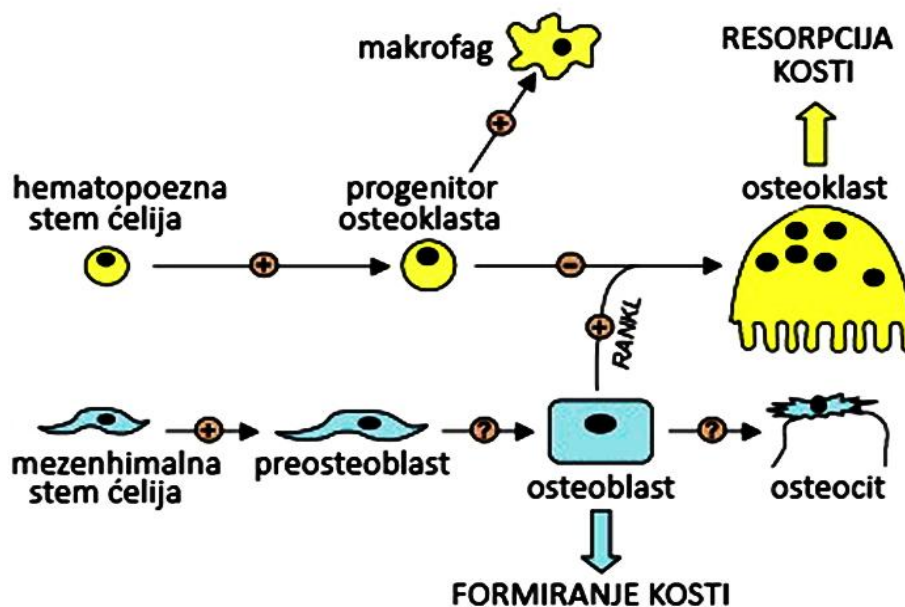
Ovakva nanostrukturalna arhitektura obezbeđuje jedinstvena mehanička i biološka svojstva kosti, čineći je dovoljno rigidnom da se odupre pritisku i silama vuče, zadržavajući istovremeno elastičnost.



Slika 6. a) Formiranje kosti duž površine implantata (SK - subperiostealna kost, KK - kortikalna kost, EK - endostealna kost, KS - koštana srž). b) Unutar navoja na histološkom preseku se uočavaju udružene zone formiranja i resorpcije kosti. *Preuzeto iz: Omar OM, Lennerås ME, Suska F, Emanuelsson L, Hall JM, Palmquist A, Thomsen P, et al. The correlation between gene expression of proinflammatory markers and bone formation during osseointegration with titanium implants. Biomaterials 2011;32:374-386 (33).*

Osteoblasti i osteoklasti deluju međusobno zavisno (35) (Slika 7). Ravnoteža, odnosno koštani balans je neophodan, jer bi u suprotnom nastala patološka stanja - skelet bi postao porozniji (osteopenija) ili gušći (osteopetroza).

Osteoklasti vode poreklo od monocita krvi koji dijapedezom napuštaju krvni sud i privučeni hemotaksom dospevaju u kost gde fuzijom formiraju džinovske multinuklearne ćelije - osteoklaste. Za formiranje osteoklasta je neophodno prisustvo liganda receptora aktivatora za nuklearni faktor $\kappa\beta$ (RANKL) i stimulišućeg faktora kolonija makrofaga (M-CSF) koje sintetišu susedni osteoblasti (19).



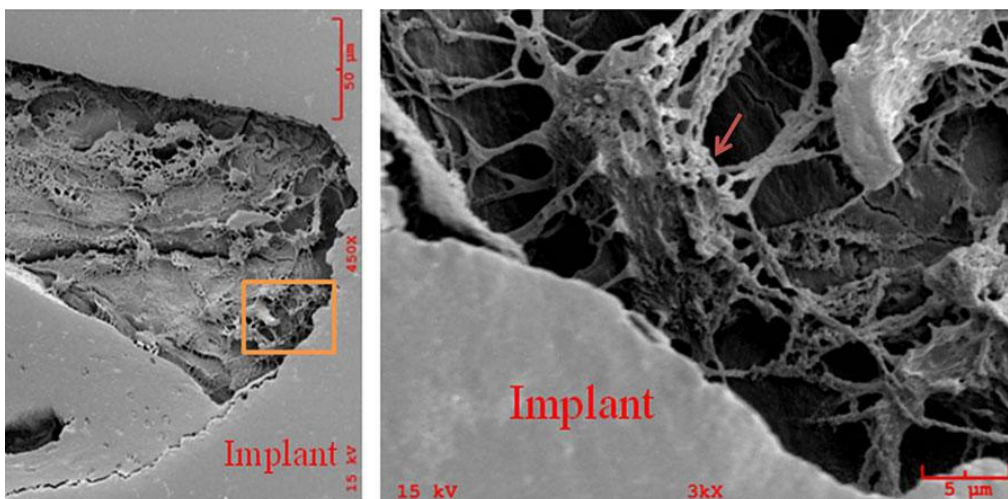
Slika 7. Diferencijacija koštanih ćelija. Citokini indukuju prvi stadijum osteoblastne diferencijacije, ali je njihov uticaj na kasnije faze diferencijacije nedovoljno razjašnjen. Oni indirektno stimulišu stvaranje osteoklasta preko RANKL-a, ali istovremeno i direktno inhibiraju osteoklastogenezu na račun diferencijacije makrofaga. Preuzeto iz: Blanchard F, Duplomb L, Baud'huin M, Brounais B. *The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. Cytokine & Growth Factor Reviews* 2009;20:19-28 (36).

U početku je delovanje osteoklasta zavisno od osteoblasta koji kontrolišu osteoklastogenezu održavanjem ravnoteže između RANKL-a i osteoprotegrina (37).

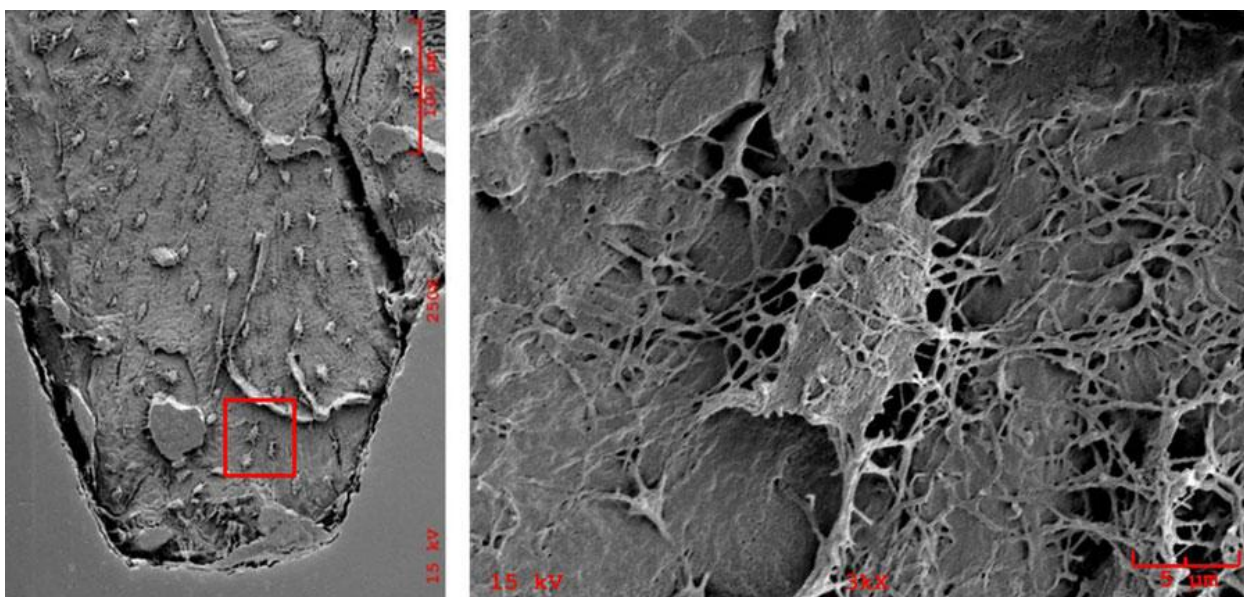
Osteoblasti sekretuju RANKL koji je ligand za RANK receptor koji aktivira osteoklastogenezu zajedno sa stimulišućim faktorom kolonija makrofaga (M-CSF). RANKL je vezan za membranu, a može ga maskirati solubilni osteoprotegrin koji je lažni receptor za RANKL (38) i koji na ovaj način čuva kost inhibiranjem osteoklastogeneze.

Terminalno diferencirani osteoblasti ovičavaju kost i pomoću kolagenaza vrše digestiju ostataka osteoida nakon čega se odvajaju od koštane površine. Tako pripremljena površina privlači migrirajuće ćelije prekursore osteoklasta. Osteoklasti formiraju u kosti strukturu konusnog oblika, koju preko integrinskih spojeva sa proteinima koštanog matriksa (npr. osteopontinom) (39) odvajaju od okolnog tkiva, štiteći susedne ćelije od kiselina i agresivnih enzima, i ograničavajući tako prostor resorpcije na tzv. resorpcionu lakunu. Ćelije prekursori osteoblasta detektuju površinu resorpcione lakune kreiranjem pseudopodija, preko kojih dobijaju informacije o količini kosti koju je potrebno stvoriti da bi se popunila šupljina (40).

Nova kost se stvara u zavisnosti od opterećenja koje treba da podnese. Mehanički nadražaji se prevode u citokinski signal čime se kontroliše funkcija osteoblasta. To se naziva mehanotransdukcija i nju obavljaju osteociti (19). Osteocit okružen kosti pruža tanke citoplazmatične produžetke kroz kanaliće nanometarske veličine (Slika 8). Opterećenje kosti dovodi do pomeranja intersticijalne međućelijske tečnosti unutar ovih kanalića (42) što stimuliše primarne cilijarne organe u ćelijskoj membrani koji zatim indukuju intracelularni signal (43). Ovi signali propagiraju preko ćelijskih spojeva do susednih osteocita, kroz tzv. osteocitni sincicijum (44) (Slika 9). Komunikacija se kroz ovu mrežu odvija strujanjem jona kroz interćelijske propusne veze (engl. *gap junctions*), preko malih mesendžer molekula poput azot-monoksida i signalnih prostaglandina (45), a za rezultat ima proteinski signal.



Slika 8. Osteocit (označen crvenom strelicom) je preko dendrita u direktnom kontaktu sa površinom implantata. Desna slika je uveličani prikaz detalja sa leve slike oivičenog kvadratom. Preuzeto iz: Du Z, Ivanovski S, Hamlet SM, Feng JQ, Xiao Y. *The Ultrastructural Relationship Between Osteocytes and Dental Implants Following Osseointegration*. *Clin Implant Dent Relat Res*. Article first published online: 10 JUL 2014 doi: 10.1111/cid.12257 (41).



Slika 9. Prikazani su osteociti u lakunama koji su međusobno povezani dendritima, pa na taj način formiraju lakunarno-kanalikularnu strukturu. Desna slika je uveličani prikaz detalja sa leve slike oivičenog crvenim kvadratom. Preuzeto iz: Du Z, Ivanovski S, Hamlet SM, Feng JQ, Xiao Y. *The Ultrastructural Relationship Between Osteocytes and Dental Implants Following Osseointegration*. *Clin Implant Dent Relat Res*. Article first published online: 10 JUL 2014 doi: 10.1111/cid.12257 (41).

1.3. ALKALNA FOSFATAZA - INDIKATOR RANE OSTEOBLASTNE DIFERENCIJACIJE I MARKER AKTIVNOSTI OSTEOBLASTA

Alkalna fosfataza je ektoenzim koji je fosfatidil-inozitol grupama vezan za spoljašnju površinu plazma membrane ćelija, a koga fosfolipaze mogu konvertovati u solubilnu, cirkulišuću formu. Iako njena funkcija nije do kraja razjašnjena, poznato je da ima široku tkivnu distribuciju i ulogu u transportu materije iz intraćelijske u ekstraćelijsku sredinu preko ćelijske membrane.

U cirkulaciji su prisutna četiri tkivno-specifična izoenzima (crevna, placentalna, placentalnoj-slična i hepatična/koštana/bubrežna tzv. tkivno-nespecifična ALP), kodirana različitim genima (46, 47).

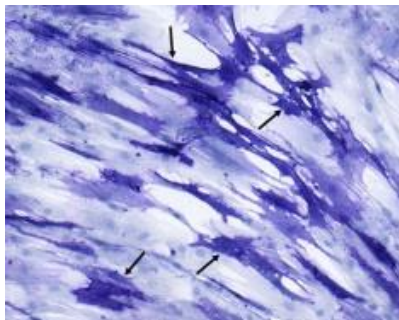
Koštana alkalna fosfataza je izoenzim koga proizvode osteoblasti, a dokazano je da se deponuje u matriksnim vezikulama koje se formiraju od "pupoljaka" ćelijske membrane; smatra se da ovi depoziti ALP imaju ključnu ulogu u procesu formiranja kosti. Naime, tokom koštanog ciklusa, u fazi formiranja kosti, ALP se stvara u ekstremno velikim količinama.

Rane progenitorne koštane ćelije ne pokazuju aktivnost ALP, već diferencijacijom kroz određeni broj ćelijskih deoba, postižu fenotip zrelog osteoblasta - postmitotičku, osteogenu ćeliju sa aktivnošću ALP (48). Zbog toga se aktivnost ALP smatra pouzdanim markerom diferencijovanih osteoblasta (49) (Slike 2. i 10).

Iako se enzimski, histohemijski ili na nivou mRNA praćenja povećanja ekspresije ALP koriste kao pouzdana indikacija osteoblastnog, hondrocitnog ili odontoblastnog fenotipa, uloga ovog povećanja je manje poznata. Osteoblasti, koji stvaraju novu kost, odnosno sintetizuju koštani matriks i učestvuju u njegovoj mineralizaciji, sekretuju velike količine ALP (51). Budući da je ALP jedan od prvih funkcionalnih gena koji se eksprimiraju u procesu kalifikacije, pretpostavlja se da se bar jedna od njenih uloga u procesu mineralizacije dešava u ranoj fazi.

Kristali hidroksi-apatita, koji čine mineralnu komponentu deponovanu u organskom matriksu, sastoje se pretežno od kalcijuma i fosfata. Smatra se da ALP promoviše mineralizaciju ili tako što utiče na lokalno povećanje koncentracije promotera mineralizacije, neorganskog fosfata, hidrolizujući pirofosfat u neorganski fosfat ili neutrališući neorganski pirofosfat koji je inhibitor formiranja kristala hidroksi-apatita (47, 52).

Nivo alkalne fosfataze (ALP) se često ispituje u serumu, kao potencijalni pokazatelj ukupne aktivnosti ćelija odgovornih za formiranje kosti (47, 53).



Slika 10. Pozitivno prebojavanje ćelija na markere osteoblastne diferenciranosti - citoheмиjska detekcija alkalne-fosfataze. *Preuzeto iz: Pekovits K, Wildburger A, Payer M, Hutter H, Jakse N, Dohr G. Evaluation of Graft Cell Viability - Efficacy of Piezoelectric Versus Manual Bone Scraper Technique. J Oral Maxillofac Surg 2012;70:154-162 (50).*

Eksperimentalno je utvrđena korelacija povećanja serumskih vrednosti ukupne ALP (51, 52) i koštane ALP (51) i zarastanja fraktura dugih kostiju (51, 52), pri čemu je korelacija između ukupne ALP i koštane ALP bila slaba ($r=0.63$) (51). Autori sledstveno zaključuju da je aktivnost ukupne ALP pouzdan indikator stvaranja kosti tokom procesa zarastanja, nezavisan od povećanja drugih izoenzima i izoformi ALP i drugih spoljnjih faktora (51).

Prethodne studije su pokazale da alkalna fosfataza igra značajnu ulogu u procesu mineralizacije oko titanijumskih implantata (54). Naime, u animalnoj studiji *Piattelli et al.* su histohemijskom karakterizacijom utvrdili snažno prisustvo ALP u citoplazmi osteoblasta u neposrednoj okolini površine implantata u trećoj nedelji nakon ugradnje što korespondira sa uočenom velikom količinom nove kosti u okolini implantata četiri nedelje po ugradnji. Aktivnost ALP od treće nedelje nastavlja izrazito da opada do drugog meseca kada se vrednosti ustaljuju i postaju slične onima koji postoje u kosti koja se remodeluje (54). To odgovara mikroskopskom nalazu zrele kosti koja se boji na sličan način kao pre ugradnje, tj. morfologija kosti se ne menja od drugog do šestog meseca (54).

1.4. KLINIČKA EVALUACIJA OSEOINTEGRACIJE DENTALNIH IMPLANTATA

Klinička evaluacija oseointegracije implantata vrši se radiološki ili primenom različitih mehaničkih testova.

Radiološki metod podrazumeva morfološku procenu koštano-implantatnog spoja, pre svega pomoću retroalveolarnih radiograma, ali i *cone-beam* kompjuterizovane tomografije koja je superiornom prostornom rezolucijom potisnula spiralnu kompjuterizovanu tomografiju i konvencionalnu radiografiju (55). To je poluin vazivan metod koji se može primeniti tokom svih faza zarastanja, ali koji ne daje podatke o stabilnosti implantata, kvalitetu i kvantitetu okolne kosti.

S druge strane, imajući u vidu da se pod oseointegracijom podrazumeva kliničko stanje koje dozvoljava funkcionalno opterećenje implantata (2, 3), a koje ne mora da podrazumeva 100%-tni kontakt implantata i kosti, jasno je da suština oseointegracije leži pre svega u stabilnosti i čvrstini veze, pre nego u histološki ili radiološki utvrđenom stepenu kontakta implantata sa kosti.

1.4.1. POJAM STABILNOSTI IMPLANTATA

Sa kliničkog stanovišta, uspešna oseointegracija je mera stabilnosti implantata koja postoji po integraciji implantata u kost (56).

Stabilnost implantata se smatra jednim od najvažnijih parametara u oralnoj implantologiji. Ona utiče na zarastanje, odnosno oseointegraciju implantata, kojom se determiniše i uspešnost terapije dentalnim implantatima. Njena važnost posebno dolazi do izražaja kada se nastoje primenjivati savremeni, ubrzani, protokoli lečenja, poput ranog ili imedijatnog opterećenja implantata (57, 58).

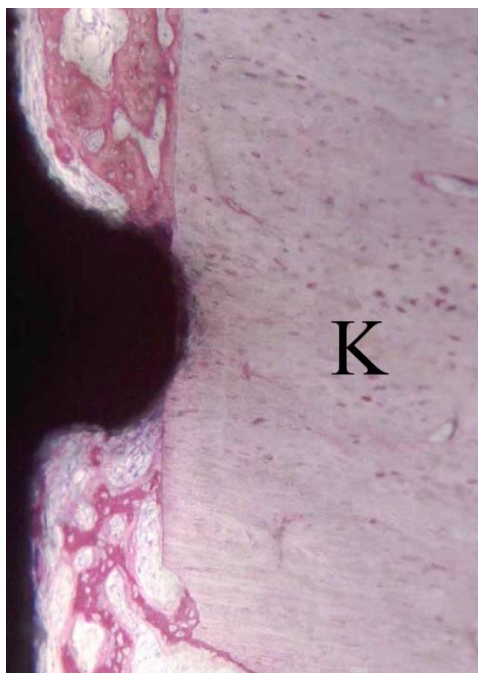
Stabilnost implantata (ukupna stabilnost) se može klasifikovati na primarnu (merenu neposredno po ugradnji) i sekundarnu (koja postoji po završetku zarastanja).

1.4.1.1.PRIMARNA STABILNOST IMPLANTATA

Primarna stabilnost je mehanički fenomen koji se definiše kao biometrijska stabilnost implantata neposredno po ugradnji, a smatra se važnim preduslovom za postizanje oseointegracije (4, 59-62), odnosno prognostičkim parametrom za procenu uspeha terapije dentalnim implantatima.

Dentalni implantat primarnu stabilnost ostvaruje ugradnjom. On je u kosti pasivno stabilizovan trenjem sa primarnim koštanim kontaktima (Slika 11). Što je kost veće gustine, to se ostvaruje više primarnih kontakata i tako postiže veća primarna stabilnost. Primarna stabilnost je neophodan preduslov za direktno deponovanje kosti na površinu implantata i integraciju implantata sa mineralizovanim tkivom (58). Veća primarna stabilnost obezbeđuje manje mikropokrete između površine implantata i okolne kosti što omogućava nesmetano zarastanje i oseointegraciju (58). Mikropomeranja implantata mogu sastrugati i polako uglačavati

koštanu površinu, smanjujući tako prisnost veze kosti i titanijuma, dok ne dođe do gubitka primarne stabilnosti.



Slika 11. Vrh navoja implantata u kontaktu sa koštanim ležištem (K) obezbeđuje mehaničku stabilnost implantata, tzv. primarnu stabilnost. *Preuzeto iz: Franchi M, Fini M, Giavaresi G, Ottani V. Review: Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. Micron 2005;36:630–44.*

Primarna stabilnost zavisi od brojnih faktora, kako onih koji su svojstva samog implantata, tako i onih koji su determinisani karakteristikama tkiva mesta ugradnje, kao i primenjene hirurške tehnike (58, 62, 63).

Dizajn implantata utiče na primarnu stabilnost određujući raspoloživu površinu za kontakt kosti sa implantatom (engl. *bone-implant contact - BIC*)(64), a njegov značaj naročito dolazi do izražaja u situacijama kada je kost lošijeg kvaliteta, pa je neophodno dizajnom implantata postići adekvatnu primarnu stabilnost, te tako omogućiti neometanu oseointegraciju. Jedan od metoda da se to postigne je povećanje

učestalosti navoja implantata čime se povećava površina i mehaničko usidrenje implantata (65).

Ugradnjom implantata koničnog oblika u standardno preparisano ležište cilindričnog oblika postiže se stvaranje kontrolisanih sila kompresije na kortikalni sloj kosti i tako utiče na povećanje primarne stabilnosti implantata (66).

U poslednje vreme, novim hibridnim dizajnom implantata se nastoje objediniti efekti koničnog oblika i povećanja učestalosti navoja implantata, a rezultati dosadašnjih studija potvrđuju pozitivan uticaj ovakvog dizajna na povećanje primarne stabilnosti, pre svega u spongioznoj kosti u kojoj se ona teže postiže (67).

Primarna stabilnost zavisi i od kvaliteta kosti implantatnog ležišta. Kvalitet kosti podrazumeva količinu i međusobni odnos kortikalne i trabekularne kosti predviđenog mesta ugradnje. U kliničkoj studiji *Andersson et al.* (68) utvrdili su korelaciju kvaliteta kosti merene prema klasifikaciji *Lekholm & Zarb-a* (69) sa postignutom primarnom stabilnosti implantata. U kosti slabijeg kvaliteta, koja podrazumeva manju gustinu, optimalnu primarnu stabilnost implantata je teško postići, pa je registrovan i veći procenat izgubljenih implantata plasiranih u ovakvu kost (63).

Na povećanje primarne stabilnosti implantata moguće je uticati intraoperativno, primenom različitih hirurških tehnika. Jedna od njih je preparacija ležišta implantata finalnim borerom manjeg dijametra od dijametra implantata, tzv. *undersized drilling* (63, 70). *Jimbo et al.* (70) su pokazali da primena implantata koničnog oblika u kombinaciji sa ovom hirurškom tehnikom statistički značajno utiče na povećanje obrtnog momenta sile prilikom ugradnje, a koga autori smatraju "barometrom" postignute primarne stabilnosti. Autori studije zaključuju da se ovom metodom može stimulisati stvaranje kosti oko implantata, što je pokazala histološka i histomorfometrijska analiza isečaka šest nedelja nakon ugradnje implantata. Pored ove, i tehnika lateralne kondenzacije, koju je originalno predložio *Summers* (71), a

koja podrazumeva primenu specifičnih instrumenata - kondenzatora kojima se kost potiskuje lateralno i apikalno i na taj način povećava njena gustina u neposrednoj okolini implantatnog ležišta, utiče na povećanje inicijalne stabilnosti implantata (72).

Brojni autori su se bavili proučavanjem uticaja primarne stabilnosti na promenu stabilnosti implantata tokom zarastanja. Iako je konvencionalni stav da se, opšte uzevši, stabilnost implantata tokom zarastanja povećava (73), veliki broj autora smatra da je ovo previše pojednostavljeno viđenje jednog kompleksnog procesa (74, 75). Naime, pokazano je da se kod protokola odloženog opterećivanja implantata, stabilnost implantata male inicijalne stabilnosti vremenom povećava, dok se kod implantata sa velikom primarnom stabilnošću smanjuje (74-76), te da se može zaključiti da primarna stabilnost implantata utiče na razvoj stabilnosti tokom procesa zarastanja. Kod imedijatno opterećenih implantata promena stabilnosti tokom zarastanja može izgledati drugačije, što je posledica funkcionalnog opterećenja tokom perioda zarastanja (77).

Značajan uticaj primarne stabilnosti na oseointegraciju implantata potvrđuje veliki broj kliničkih studija (78, 79, 80, 81). Histološki je potvrđeno da je kost oko implantata veće primarne stabilnosti mineralizovanija, sa manjim koštano-sržnim prostorima u odnosu na kost oko nestabilnih implantata, što vodi zaključku da postizanje direktnog kontakta implantata sa kosti ima pozitivan efekat na strukturu periimplantatne kosti (61).

Uprkos brojnim studijama, ne postoji stav o minimalnoj primarnoj stabilnosti koja bi bila garant uspešne oseointegracije. S druge strane, klinička praksa pokazuje da se uspešnost terapije implantatima povećava kada je obrtni moment sile prilikom ugradnje veći od 40Ncm (62).

Primarna stabilnost je naročito važna u prvim danima po ugradnji (19). U standardnim uslovima, prve nedelje nakon ugradnje su posebno osetljiv period jer

može doći do pada primarne stabilnosti ispod kritičnog nivoa, a da se još uvek nije razvila sekundarna stabilnost.

1.4.1.2.SEKUNDARNA STABILNOST IMPLANTATA

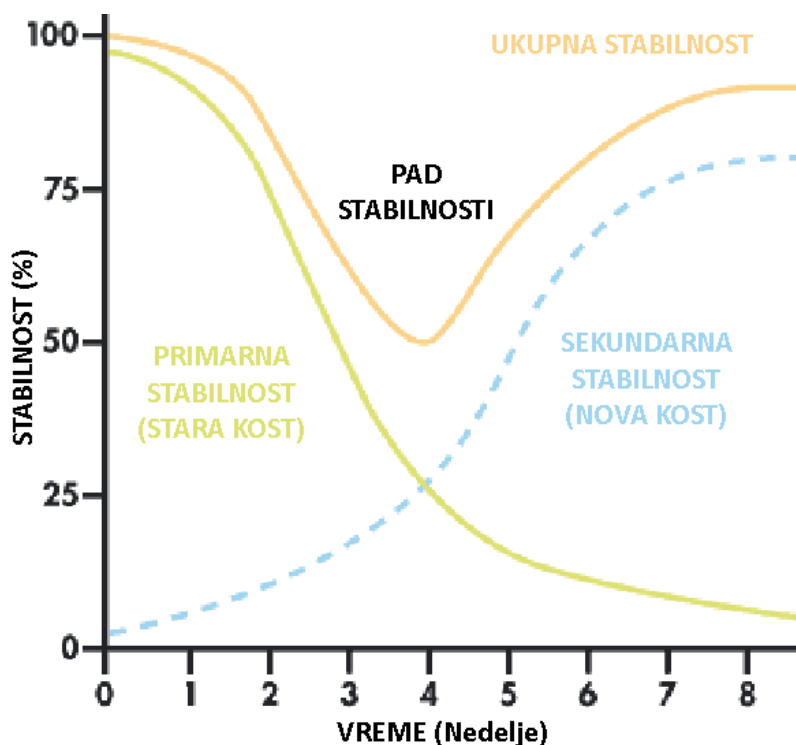
Mehaničko usidrenje implantata, koje zbog mehaničke kompresije okolne kosti uglavnom ima visoke vrednosti neposredno po ugradnji, slabi tokom vremena u procesu zarastanja. U trenutku ugradnje implantata biološka stabilnost ne postoji, već nastaje po pojavi novih koštanih ćelija na mestu ugradnje, i vremenom se povećava. Kao rezultat oseintegracije, inicijalnu mehaničku stabilnost dopunjuje i/ili zamenjuje biološka stabilnost, da bi konačna stabilnost implantata bila rezultat ove dve stabilnosti.

Stvaranje nove kosti i sekundarnih koštanih kontakata koji dopunjuju primarne počinke već prve nedelje po ugradnji (82).

Sekundarna stabilnost nastaje kao rezultat kaskade bioloških procesa, poput regeneracije i remodelacije kosti, na kontaktnoj površini implantata i kosti (oseintegracije) (83). Na nju utiče mnoštvo faktora kao što su: primarna stabilnost i njene determinante - kvalitet okolne kosti, tehnika ugradnje i dizajn implantata, zatim karakteristike površine implantata, navike pacijenta (63, 84).

Brojne longitudinalne studije pokazuju da se stabilnost implantata menja tokom oseintegracije. Za većinu slučajeva pretpostavlja se da će se stabilnost implantata smanjivati u prvim nedeljama zarastanja, nakon čega počinke da raste (85). Ovo je posledica biološke reakcije kosti na hiruršku traumu. Tokom inicijalne faze remodelacije kosti, kost i nekrotično tkivo resorbuju osteoklasti, što se reflektuje smanjenjem stabilnosti, nakon čega sledi faza apozicije kosti usled aktivnosti osteoblasta (84) (Slika 12). Smatra se da pojava privremenog pada stabilnosti, kao i njegove karakteristike - vreme javljanja, dužina trajanja i veličina pada, o čemu

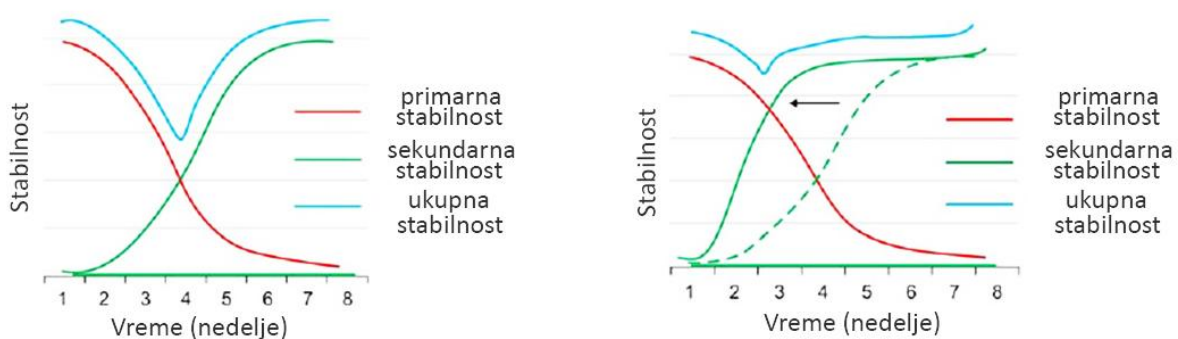
postoje različiti literaturni podaci (75-77, 86), zavise od velikog broja faktora, među kojima su i kvalitet kosti, finalni torak prilikom ugradnje i dizajn implantata, naročito njegova površina. Među brojnim autorima postoje razmimoilaženja u vezi sa trenutkom najvećeg pada stabilnosti po ugradnji implantata, budući da literaturni podaci govore o periodu između treće i osme nedelje nakon ugradnje (77, 84). Ove razlike su verovatno posledica različitog dizajna korišćenih implantata, a pre svega različitosti svojstava njihove površine.



Slika 12. Promena stabilnosti tokom oseointegracije implantata.

Promena stabilnosti implantata koju tokom vremena ne prati inicijalni pad u vezi je sa ubrzanim povećanjem kontaktne površine implantata i kosti, a uočena je kod

implantata sa pretretiranom (fluoridima, bazama, itd.), te stoga potencijalno bioaktivnom površinom, gde ubrzano stvaranje kosti na međuspoju sa implantatom dovodi do bržeg rasta sekundarne stabilnosti (87). Ovaj biološki proces neutrališe pad u primarnoj stabilnosti i ujedno osigurava konstantnost stabilnosti implantata tokom vremena (bez pada vrednosti tokom perioda zarastanja) (87) (Slika 13).



Slika 13. Ubrzano stvaranje kosti dovodi do bržeg rasta sekundarne stabilnosti čime se obezbeđuje konstantnost stabilnosti implantata.

Morfologija površine implantata može se modifikovati hemijskim, mehaničkim i elektrohemijskim postupcima (62). Površinu implantata moguće je tretirati laserski, plazmirati, peskirati, nagrizati kiselinom, elektrohemijski (anodizacija), fluoridima, nano-česticama (62). Time se nastoji povećati stabilnost implantata, hidrofilitnost, kontakt implantata sa koštanim ležištem, jačina ovog kontakta i uspeh terapije kod pacijenata koji se smatraju rizičnim (62). Na ovaj način moguće je stimulisati zarastanje i smanjiti period do opterećivanja implantata (62).

1.4.2. MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA - METOD ANALIZE REZONANTNE FREKVENCIJE

Postoji više metoda kojima se u kliničkoj praksi pokušala meriti stabilnost implantata. Analiza rezonantne frekvencije (engl. *Resonance Frequency Analysis - RFA*) se pokazala najpouzdanijom (85). Nju je u implantologiju uveo *Meredith* 90-tih godina prošlog veka, da bi od tada postala opšteprihvaćena i korišćena tehnika (88).

Ova metoda meri čvrstoću veze implantata i kosti posredstvom predajnika signala koji je povezan sa analizatorom frekventnog odgovora (*Ostell; Integration Diagnostics, Göteborg, Sweden*). Rezonantna frekvencija kompleksa predajnik-implantat se izračunava kao najveća amplituda signala i grafički se ilustruje na displeju aparata. Ona ima vrednosti opsega 3,500 - 8,500 Hz, a konvertuje se u numeričku vrednost - koeficijent stabilnosti implantata (engl. *implant stability quotient - ISQ*) koji ima vrednosti od 1 do 100. Što je veća vrednost ovog koeficijenta, smatra se da je implantat bolje usidren u kosti.

Jedini komercijalno dostupan aparat čiji se princip rada zasniva na ovoj metodi je *Osstell (Integration Diagnostics, Göteborg, Sweden)*, odnosno njegove modifikovane i unapređene verzije - *Osstell Mentor* i *Osstell ISQ*. Najnovija verzija - *Osstell ISQ* generiše dve ISQ vrednosti. Naime, predajnik signala, metalni nastavak zašrafljen u implantat, ima dve osnovne rezonantne frekvencije; on vibrira u dva pravca, normalna jedan na drugi. Jedna vibracija je u pravcu najmanje stabilnosti, a druga u pravcu najveće stabilnosti, pa se tako kao rezultat beleže dve ISQ vrednosti, manja i veća (65).

Apsolutne vrednosti *RFA* nisu isključivo mera kvaliteta oseointegracije. Tri su osnovna faktora koji direktno utiču na vrednost *RFA*: krutost međuspoja implantata i kosti, krutost same kosti i krutost komponenti implantata (88). Klinički merljive karakteristike stabilnosti implantata se mogu porediti tokom praćenja oseointegracije svakog pojedinačnog implantata, ali bi trebalo biti oprezan u poređenju vrednosti stabilnosti između različitih implantata, bilo kod istog pacijenta ili interindividualno.

Na inicijalne vrednosti koeficijenta stabilnosti utiču: količina prisutne kortikalne kosti, metod preparacije implantatnog ležišta, veličina dela implantata koji se nalazi izvan krestalne kosti i oblik implantata (89). Eksperimentalno i klinički je pokazano da *RFA* vrednosti ne zavise od ukupne dužine implantata (90, 91), ali zavise od njegove efektivne dužine, tj. rastojanja između predajnika signala i prvog kontakta implantata sa kosti (92). Implantati postavljeni u kost boljeg kvaliteta, bogatiju kortikalnom kosti, manje variraju u ISQ vrednostima u odnosu na one ugrađene u kost lošijeg kvaliteta.

Brojna istraživanja ukazuju na povećanje ISQ vrednosti stabilno oseointegriranih implantata tokom vremena, što korelira sa povećanjem kontaktne površine implantata i kosti (58, 92).

Longitudinalne studije potvrđuju da promena stabilnosti implantata tokom zarastanja ipak nije linearne prirode, ali da se dešava po utvrđenom obrascu. U slučaju sporog rasta biološke, a brzog pada mehaničke stabilnosti, javlja se prolazni pad ukupne stabilnosti implantata, fenomen koji je uzrokovan gubitkom mehaničke stabilnosti nedovoljno kompenzovane povećanjem biološke stabilnosti (57).

Najčešće se pad stabilnosti implantata uočava u periodu između druge i osme postoperativne nedelje (77, 84), a najveći je u trećoj ili četvrtoj nedelji (2-12 ISQ ispod vrednosti inicijalne stabilnosti) (77). Vrednosti ISQ obično do šeste postoperativne nedelje ponovo dostižu inicijalnu vrednost i, opšteuzevši, ukoliko implantat dostigne istu ili približnu *RFA* vrednost zabeleženu prilikom ugradnje, može se pretpostaviti da je uspešno oseointegriran. Postignuta visoka inicijalna *RFA* vrednost koja perzistira govori u prilog uspešnoj terapiji. Kod uspešno oseointegriranih implantata u literaturi se opisuju ISQ vrednosti opsega od 57 do 82, sa prosečnom vrednosti od 69 ISQ, godinu dana nakon ugradnje (90).

Kod ranog gubitka implantata, vrednosti ISQ se smanjuju u prve dve nedelje po ugradnji, sa trendom daljeg pada u narednim nedeljama. Pokazano je, međutim, da se

neki implantati sa nižim vrednostima stabilnosti, a koji se ne opterete, učvrste tokom vremena i uspešno oseointegrišu (91). U literaturi se navode izmerene *RFA* vrednosti neposredno pre gubitka implantata između 39 i 68 (91). Nezavisno od razlika u dizajnu studija, površini korišćenih implantata i protokola opterećenja, stav je da ne postoji definisana *RFA* vrednost koja bi kliničaru pružila informaciju da li će se određeni implantat uspešno oseointegrirati ili ne (89). Bez obzira na to, zaključak brojnih kliničkih studija je da *RFA* metod može pružiti klinički relevantnu informaciju o stanju koštano-implantatne kontaktne površine sve vreme trajanja terapije implantatima (89).

1.4.3. PERIIMPLANTATNA SULKUSNA TEČNOST - DIJAGNOSTIČKI POTENCIJAL

Periimplantatna sulkusna tečnost (PIST) je poput gingivalne sulkusne tečnosti (GST), osmotski regulisan transudat/eksudat porekla gingivalnih krvnih sudova koga čini veliki broj različitih konstituenata (93). Slično GST, sastav PIST čine mahom enzimi domaćina i njihovi inhibitori, inflamatorni medijatori, modulatori odgovora domaćina i produkti razgradnje tkiva (94).

Raznovrsne tehnike se koriste u cilju analize molekularne aktivnosti u PIST. Na proteinskom nivou, to su ELISA (imunoadsorpcioni enzimski test, engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*) (95, 96, 97), *immunoblotting*, radioimunoesej (RIA) (98), spektrofotometrija (99), a na nivou genske ekspresije, PCR tehnike (100).

U poslednje vreme, veliki broj studija se bavi analizom karateristika sastojaka i količine ove tečnosti (101, 102). Slično GST, veliki je broj različitih faktora koji utiču na količinu PIST, mada su za razliku od GST, oni manje proučeni. Za sada se zna da su to inflamacija, protokol opterećenja implantata, dizajn protetske nadoknade i zdravlje periimplantatnog tkiva (101, 102).

Brojni autori su se bavili ispitivanjem potencijalnih dijagnostičkih markera u PIST zdravih i obolelih implantata (60). Potvrđena je korelacija između količine PIST i akumulacije plaka sa stepenom inflamacije periimplantatnog mekog tkiva (103) i koštane resorpcije (104). Većina studija ukazuje na povećanje količine PIST u slučajevima kada je periimplantatna inflamacija prisutna ili se povećava (102, 105), a količina PIST raste i sa povećanjem dubine sulkusa, veličine implantata i primene jednofazne hirurške tehnike (106), kao i usled opterećenja implantata, pri čemu ostaje povećana bez prisustva gingivalne inflamacije (107).

Preliminarni rezultati nekih kliničkih studija ukazuju na korelaciju genske ekspresije tumorskog faktora nekroze α (TNF- α) i ALP, ali i interleukina 1β (IL- 1β) i osteokalcina (OC) porekla PIST sa kliničkim parametrima zdravlja periimplantatnog tkiva (108).

Dokazano je da sastav i količina GST i PIST zavise od stanja okolnog mekog tkiva i kosti (109, 110), pa se smatra da se PIST može koristiti u cilju evaluacije pojedinih faza zarastanja nakon sprovedene terapije, recimo ugradnje dentalnih implantata, jer predstavlja tečnost porekla traumatizovanih tkiva (111).

U literaturi je malo podataka o promenama u PIST tokom oseointegracije implantata. Nomura et al. su analizirali promene nivoa tkivnog inhibitora metaloproteinaze -1 (TIMP-1) i matriksne metaloproteinaze - 8 (MMP-8) u PIST nakon ugradnje implantata (96). Nalaz povišenog nivoa TIMP-1 u prvoj nedelji po ugradnji koji je u četvrtoj nedelji, kao i nivo MMP-8 dostigao vrednosti slične onima u GST zdravih subjekata, naveo je autore na zaključak da se u neposrednoj blizini implantata dešava drastično remodelovanje tvrdih i mekih tkiva tokom ranih faza oseointegracije (96).

Analize PIST se još uvek ne izvode rutunski, ali je ova biološka tečnost predmet sve većeg broja istraživanja koja nastoje ispitati njene mogućnosti u dijagnostici oboljenja periimplantatnog tkiva. Analiza PIST zauzima sve važnije mesto među

specifičnim testovima, jer se smatra da ova tečnost poseduje potencijal da reflektuje stanje periimplantatnog mekog tkiva i kosti (101, 102), pa bi mogla biti korisna u otkrivanju i klasifikaciji bolesti ovih tkiva, kao i u proceni njihovog zarastanja nakon primene različitih vrsta terapije.

Prikupljanje PIST je neinvazivno, a metode analize relativno jednostavne. Zbog toga bi bolje razumevanje biodinamike PIST bilo od velike važnosti kako sa naučnog, tako i kliničkog stanovišta.

2. TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE

2.1. POJAM I KARAKTERISTIKE TERAPIJE LASEROM MALE SNAGE

Terapija laserom male snage (TLMS) podrazumeva upotrebu lasera koji emituju svetlost talasne dužine 600-1100 nm, spektra vidljive i nižeg dela spektra infracrvene svetlosti, izlazne snage 1-500 mW (112). Ovo zračenje je kontinuirano ili impulsno, a čini ga konstantan snop zraka relativno male gustine energije (0,04-50 J/cm²), usmeren na ciljno tkivo ili sloj ćelija.

Veliki broj različitih izvora laserske svetlosti (helijum-neonski, rubinski, galijum-aluminijum-arsenidski, neodijum: itrijum-alumit-granat i dr.) koristi se da isporuči terapiju laserom male snage po različitim protokolima u različitim tretmanima.

TLMS prenosi energiju nižeg nivoa, pa se pritom ne emituju toplota, zvuk ni vibracije. Reakcija je netermička, ne dolazi do povećanja temperature zračenog tkiva. Ispitivanja su pokazala da je zagrevanje tkiva po ekspoziciji laseru male snage zanemarljivo ($\pm 1^{\circ}\text{C}$)(113).

Brojni su naučni dokazi o stimulatornom delovanju lasera male snage (LMS) na zarastanje rana, sintezu kolagena, regeneraciju nerava, remodelovanje i regeneraciju kosti, normalizaciju poremećene hormonalne ravnoteže, smanjenje bola i inflamacije,

stimulaciju oslobađanja endorfina i modulaciju imunog odgovora (10, 11, 114-117) (Tabela 1).

Tabela 1. Efekti lasera male snage



2.2. MEHANIZAM DEJSTVA LASERA MALE SNAGE I BIOLOŠKI ODGOVOR TKIVA

Laser male snage stimuliše veliki broj bioloških procesa, uključujući ćelijski rast, proliferaciju i diferencijaciju (112). Međutim, molekularni mehanizam stimulatornih dejstava LMS ostao je još uvek nedovoljno razjašnjen (17, 112).

Potencijalni mehanizam dejstva lasera male snage uključuje svetlosno uzrokovano povećanje sinteze adenozin-tri-fosfata (ATP), kao i stimulaciju sinteze DNK i RNK (17), čime se obezbeđuje funkcionisanje reparatornih mehanizama u pogođenim ćelijama.

Fotoni koji ulaze u ćeliju bivaju apsorbirani od strane bioloških hromofora (delovi molekula odgovorni za apsorpciju zraka određenih talasnih dužina) koje se nalaze u mitohondrijama i ćelijskoj membrani. One intenzivno reaguju sa laserskim zrakom i konvertuju energiju fotona u hemijsku energiju, u formi ATP-a. Karu et al. su otkrili skoro dvostruko povećanje ćelijskog nivoa ATP-a nakon zračenja He-Ne laserom (118). Povećanje nivoa ATP-a utiče na pojačavanje ćelijskih funkcija povećanjem sinteze proteina, sinteze DNK i ekspresije faktora rasta i citokina, što vodi ćelijskoj proliferaciji (119). TLMS se, prema tome, zasniva na uticaju svetlosne energije na ćelijski metabolizam (112) (Tabela 2).

Tabela 2. Modulacija ekspresije i sekrecije molekula laserom male snage

KLASIFIKACIJA	MOLEKULI	BIOLOŠKI EFEKTI TLMS
Faktori rasta	BDNF, GDNF, bFGF, IGF-1, KGF, PDGF, TGF- β , VEGF	Proliferacija, Diferencijacija, Formiranje koštanih nodula
Interleukini	IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-2, IL-4	Proliferacija, Migracija, Imunološka aktivacija
Inflamatorni citokini	PGE-2, COX-2, IL-1 β , TNF- α	Inhibicija inflamacije
Mali molekuli	ATP, cGMP, ROS, Ca ²⁺ , NO	Normalizacija ćelijske funkcije, Smanjenje bola, Zarastanje, Uticaj na ćelijsku aktivnost, Migracija, Angiogeneza

Preuzeto iz: Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. Journal of Biomedical Science 2009;16:4 (121).

Biološki odgovor ćelija na svetlost vidljivog i nižeg dela spektra infra-crvenog zračenja, nastaje kao posledica fizičkih i/ili hemijskih promena u fotoakceptorskim molekulima, komponentama respiratornog lanca (120). Najvažnije promene koje nastaju u zračenim ćelijama usled dejstva lasera su promene redoks potencijala, ubrzanje transporta elektrona, oslobađanje azot-monoksida iz katalitičkog centra citohrom c oksidaze, stvaranje superoksida i promene biohemijske aktivnosti nastale lokalizovanim tranzitornim zagrevanjem hromofora (120). Teorija koja objašnjava

mehanizam dejstva LMS, po kojoj laser utiče na ćelijske fotoreceptore, naziva ovaj mehanizam fotobiološkim ili biostimulacijom.

Niske doze zračenja (2 J/cm^2) laserom male snage stimulišu proliferaciju, dok su visoke doze (16 J/cm^2) supresivne, pa je biološki odgovor tkiva na ekspoziciju dozno zavisian (112). Pri manjim dozama, veća količina Ca^{2+} se transportuje u citoplazmu antiportnim transportom što stimuliše različite biološke procese poput sinteze DNK i RNK, mitoze i ćelijske proliferacije. Pri većim dozama, oslobodi se previše Ca^{2+} , što rezultuje hiperaktivnošću kalcijum-adenozin trifosfataza kalcijumskih pumpi i iscrpljuje ćelijsku ATP rezervu, inhibišući na taj način ćelijski metabolizam (122).

Veličina biostimulatornog efekta TLMS pored toga što zavisi od vrste lasera, primenjenih talasnih dužina, doze i intenziteta, zavisi i od fiziološkog stanja ćelije (17). Moguće je, zbog toga, da ćelije u tkivu ili ćelijskoj kulturi ne daju istovetan odgovor na TLMS, kao i da slični parametri iradijacije proizvode različite efekte na različite vrste ćelija (17). Pokazano je da TLMS može stimulisati ćelijsku proliferaciju ukoliko ćelije slabije rastu u trenutku iradijacije. Međutim, ukoliko su u trenutku iradijacije one u potpunosti funkcionalne, onda laser nema šta da stimuliše, pa neće biti nikakvog terapijskog efekta (123).

2.3. TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE - PREGLED LITERATURE

2.3.1. UTICAJ LASERA MALE SNAGE NA KOŠTANE ČELIJE - *IN VITRO* STUDIJE

Prva studija uticaja LMS na koštane ćelije publikovana je 1998. godine. *Ozawa et al.* su pokazali da je pod uticajem lasera male snage došlo do formiranja koštanih nodula u *in vitro* uslovima, pa su zaključili da TLMS može stimulisati ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju, ali samo kada se primenjuje na nediferentovanim ćelijama (124). Biostimulatorni efekat diodnog lasera na osteoblaste dobijene od mezenhimalnih ćelija pokazali su i *Dörthbudak et al.* 2000. godine (125).

Guzzardella et al. su 2002. ispitivali uticaj lasera na zarastanje koštanih defekata. Dejstvo diodnog lasera na eksperimentalno kreirane koštane defekte femura pacova dovelo je do značajnog povećanja nivoa alkalne fosfataze (ALP) i azot-monoksida (NO), u odnosu na kontrolnu grupu, pa su autori došli do zaključka da bi TLMS mogla ubrzati zarastanje koštanih povreda (126).

Khadra et al. su 2005. godine istraživali uticaj TLMS na proliferaciju i diferencijaciju humanih osteoblastima sličnih ćelija dobijenih iz humane mandibule i njihovo vezivanje za materijal titanijumskog implantata (127). TLMS je u ovoj studiji značajno povećala ćelijsku proliferaciju i pripoj za titanijum, a ćelije zračene laserom gustine energije 3 J/cm² su pokazale statistički značajnu veću sintezu osteokalcina i transformišućeg faktora rasta $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) u odnosu na kontrolnu i grupu zračenu laserom manje gustine energije (1,5 J/cm²), dok se aktivnost ALP nije razlikovala između grupa (127).

Iste godine, *Abramovitch-Gottlib et al.* su proučavali promenu fenotipa i diferencijaciju mezenhimalnih stem ćelija ka osificiranom tkivu koristeći sistem trodimenzionalnog biomatriksa i TLMS (128). Autori su zaključili da se ovom metodom postiže biostimulacija proliferacije i diferencijacije mezenhimalnih stem ćelija u osteoblaste u ranim stadijumima kulture i sledstveno povećava *ex-vivo* osifikacija (128).

2008. godine, *Stein et al.* su potvrdili biostimulatorno dejstvo diodnog lasera gustine energije 2 J/cm^2 na rast i diferencijaciju humanih osteoblastima sličnih ćelija, budući da su nakon TLMS ekspresija osteopontina i mRNK kolagena tip I bili značajno povećani (129).

Da TLMS ima kompleksan uticaj na humane osteoblastične ćelije gajene na titanijumu, pokazala je studija koju su vodili *Petri et al.* 2010. godine. Oni su utvrdili da, uprkos kratkotrajnom prolaznom nepovoljnom efektu neposredno po iradijaciji, TLMS ima stimulatorno dejstvo na diferencijaciju osteoblastičnih ćelija, te da bi mogla imati značaja za oseointegraciju implantata (130).

2012. godine *Soleimani et al.* su koristeći diodni laser gustina energije 2 i 4 J/cm^2 utvrdili značajno promovisanu proliferaciju i diferencijaciju mezenhimalnih stem ćelija koštane srži, za obe gustine energije, u poređenju sa kontrolnom grupom (131). Značajno povećanje aktivnosti ALP u zračenih ćelija je bila potvrda diferencijacije mezenhimalnih ćelija u osteoblaste (131).

Da Silva et al. su 2012. godine kultivacijom ćelija uzdužne palatinalne suture pacova, uzetih 24h, 48h i 7 dana nakon forsiranog cepanja nepca (engl. *rapid maxillary expansion - RME*) pacova, ocenjivali parametre i markere genske ekspresije osteogeneze (132). U eksperimentalnoj grupi sa jednoseansnom primenom TLMS posle RME uočena je pojačana aktivnost ALP, pojačana mineralizacija i genska ekspresija koštanih markera u odnosu na grupu bez primene TLMS (132).

2.3.2. UTICAJ LASERA MALE SNAGE NA ZARASTANJE KOŠTANOG TKIVA I VEZU TITANIJUMSKOG IMPLANTATA I KOSTI - EKSPERIMENTALNE STUDIJE NA ANIMALNOM MODELU

Još 1988. godine *Takeda et al.* su proučavali uticaj TLMS na zarastanje ekstrakcione alveole pacova (16). Histopatološki nalaz je pokazao bržu proliferaciju

fibroblasta i ranije formiranje trabekularnog osteoidnog tkiva u eksperimentalnoj grupi pacova, gde je TLMS podrazumevala primenu diodnog lasera jednom dnevno u trajanju od 5 minuta tokom sedam dana nakon ekstrakcije (16).

Luger et al. su se 1998. bavili uticajem TLMS na mehanička svojstva tibija pacova koja su evaluirana 4 nedelje nakon frakture (133). U grupi gde je primenjena TLMS maksimalno opterećenje (do pucanja) i čvrstoća tibija su bili značajno veći u poređenju sa kontrolnom grupom, dok je maksimalna ekstenzija bila manja (133).

Nicolau et al. su 2003. godine ispitivali uticaj TLMS talasne dužine $\lambda=660\text{nm}$ i gustine energije 10 J/cm^2 na zarastanje eksperimentalno kreiranih defekata tibija pacova. Histomorfometrijska analiza je pokazala značajno povećanje aktivnosti koštanih ćelija (u smislu sinteze i resorpcije) sa zadržavanjem normalne strukture kosti nakon primene TLMS 2, 4, 6, i 8. postoperativnog dana (134).

2004. godine *Khadra i al.* su na zečijem eksperimentalnom modelu nakon ugradnje implantata u tibije svakodnevno primenjivali zračenje diodnim laserom tokom deset dana (135). Otpornost na istezanje (engl. *tensile test*) je posle 8 nedelja bila značajno veća kod zračenih implantata, odnosno statistički značajno veći je bio funkcionalni pripoj kosti sa implantatom (135). Veličina kontakta kosti i implantata (engl. *bone-implant contact - BIC*) je histomorfometrijski bila statistički značajno veća kod zračenih implantata, kao i količina kalcijuma i fosfora, što je sugerisalo ubranu maturaciju kosti nakon primene TLMS u ovom eksperimentalnom modelu (135).

Iste godine *Khadra* je sa saradnicima primenjujući TLMS tokom šest postoperativnih dana po eksperimentalnom kreiranju koštanih defekata na parijetalnim kostima zečeva, ukazao na histološki potvrđenu izraženiju angiogenezu, sintezu vezivnog, kao i koštanog tkiva u grupi sa postoperativnom TLMS (136).

Rezultati histološke analize nakon primene TLMS tokom 7 dana po kreiranju koštanih defekata na femuru pacova, u studiji Markovića et al. 2005. godine, pokazali

su značajno stimulirano stvaranje kosti u odnosu na grupu bez primene lasera, nakon 2. i 3. postoperativne nedelje (137).

I *Nissan et al.* su 2006. godine kreirajući koštane defekte na mandibulama pacova pokazali da postoperativna primena lasera male gustine snage ($4\text{mW}/\text{cm}^2$), za razliku od lasera velike gustine snage ($22,4\text{mW}/\text{cm}^2$) ima pozitivno dejstvo na zarastanje ovako kreiranih defekata, uticajem na transport kalcijuma tokom sinteze nove kosti (138). Istovremeno, TLMS nije imala uticaja na aktivnost ALP (138).

U studiji koju su vodili *Pretel et al.* 2007. godine, koštani defekti su kreirani na mandibulama pacova i na polovini subjekata primenjeno je jednoseansno zračenje Ga-Al-As diodnim laserom (139). Histološka analiza je otkrila skraćivanje inicijalne inflamatorne reakcije i brže formiranje nove kosti nakon 15. i 45. postoperativnog dana u grupi sa TLMS. S druge strane, nakon 60 dana nije postojala statistički značajna razlika u strukturi kosti između dve grupe (139).

Jakse et al. su 2007. godine u eksperimentalnoj studiji na ovcama, koristeći *split-mouth* dizajn ispitivali uticaj TLMS na regeneraciju kosti nakon sinus-lift procedure, a zatim i uticaj na oseointegraciju implantata koji su ugrađeni u sekundarnoj hirurškoj proceduri 4 i 12 nedelja nakon sinus-lifta (140). Histomorfometrijska analiza uzoraka nakon 4 i 12 nedelja nije otkrila bitne razlike u regeneraciji kosti između zračenih i nezračenih strana vilice. S druge strane, uzorci nakon žrtvovanja životinja 16 nedelja po ugradnji implantata, ukazali su na statistički značajno veći kontakt implantata i kosti (BIC) na zračenim stranama vilice, što svedoči o pozitivnom efektu postoperativne TLMS na oseointegraciju implantata ugrađenih nakon augmentacije sinusa (140).

Maluf et al. su 2010. godine procenjivali mehaničku otpornost veze kosti i implantata ugrađenih u tibije miševa, sa i bez postoperativne šestodnevne primene TLMS sa 48h intervalom pauze između iradijacija (141). U grupi gde je primenjen laser, obrtni momenat potreban da se implantat odvoji od kosti je bio statistički

značajno veći u odnosu na grupu nezračenih implantata, što je autore navelo na zaključak da postoperativna TLMS doprinosi jačanju spoja implantata i kosti (141).

Boldrini et al. su 2012. godine, nakon ugradnje titanijumskih implantata na modelu pacova, primenjivali jednoseansno postoperativnu TLMS, gde je ukupna zračna doza po implantatu iznosila 22 J/cm² (142). Procenjujući kvalitet oseointegracije implantata koristeći obrtni momenat potreban da se ukloni implantat (engl. *removal torque*), autori su ustanovili statistički značajno veće vrednosti u grupi zračenih implantata nakon 30 i 45 dana od ugradnje u odnosu na kontrolnu grupu, čime su pokazali da je jednoseansna TLMS uticala na poboljšanje čvrstine spoja implantata i kosti (142).

2.3.3. PRIMENA TERAPIJE LASEROM MALE SNAGE U KLINIČKOJ PRAKSI

Kliničke studije svedoče o pozitivnom biomodulatornom efektu TLMS na zarastanje koštanih defekata (10, 12, 14).

Aboelsaad et al. su u kliničkoj studiji *split-mouth* dizajna ispitivali uticaj TLMS na zarastanje infrakoštanih parodontalnih džepova kod pacijenata sa hroničnim periodontitisom (12). Terapija se sastojala od primene bioaktivnog stakla u terapiji defekata, sa protokolom bez TLMS na jednoj strani vilice i protokolom sa primenom TLMS 3, 5, i 7. postoperativnog dana na suprotnoj strani vilice. Klinički i radiološki parametri su pokazali statistički značajno bolje terapijske rezultate tri meseca nakon zahvata u grupi gde je primenjena adjuvantna TLMS, dok nakon šest meseci nije primećena razlika među grupama. Autori su zaključili da je TLMS ubrzala zarastanje u grupi gde je primenjen laser u odnosu na kontrolnu grupu (12).

Ubrzano zarastanje i stimulirano stvaranje koštanog tkiva, kao i statistički značajan antiedemski efekat usled primene TLMS nakon hirurške ekstrakcije impaktiranih donjih umnjaka pokazani su u kliničkoj studiji Markovića (11). Autor ove

studije istovremeno zaključuje da primena ovog vida terapije nakon oralno-hirurških intervencija nije imala bilo kakve, lokalne niti opšte, štetne efekte (11).

U stomatologiji, LMS se sve češće koriste kao adjuvantna terapija u lečenju različitih stanja, pre svega zbog uticaja na smanjenje bola, ali i pozitivnog uticaja na zarastanje rana (7).

Uprkos evidentnom benefitu ovog vida terapije, budući da njeni mehanizmi dejstva i dalje nisu u potpunosti rasvetljeni, a protokoli primene nedovoljno definisani, za sada još uvek ne nalazi primenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Iako su rezultati brojnih istraživanja o pozitivnom uticaju lasera na oseointegraciju implantata obećavajući, nedostaju kliničke studije koje bi razjasnile mogućnosti i domete ovog vida terapije koja bi kao dopunski tretman možda mogla učiniti predviljivijim kompleksni proces oseintegracije, te tako naći primenu u slučajevima gde se strahuje da bi uspeh mogao izostati, bilo zbog lokalnog faktora, bilo zbog opšteg stanja pacijenta.

NAUČNA OSNOVA PROBLEMA

Protetsko zbrinjavanje bezubih i krezubih pacijenata se sve češće postiže ugradnjom endosealnih dentalnih implantata. Brojni naučni radovi pokazuju da se uspešna terapija implantatima u velikom broju indikacija može postići različitim kliničkim protokolima ugradnje i opterećenja implantata (143), pri čemu se teži da se skрати vreme potrebno za potpunu rehabilitaciju pacijenta.

Evolucija dizajna implantata, kao i materijala i procedura koji ih prate, imaju za cilj unapređenje oseointegracije tj. njene dinamike (ubrzanja oseointegracije i/ili poboljšanja zarastanja), smanjenja komplikacija (infekcije, periimplantitisa i sl.), što sve doprinosi boljem dugoročnom ishodu terapije implantatima (144).

Proces oseointegracije implantata je veoma sličan mehanizmu zarastanja koštanog preloma. Tokom inicijalne faze, odmah po ugradnji implantata, krvni ugrušak koji popunjava prostor između implantata i kosti se postepeno zamenjuje osteoidnim tkivom i novom trabekularnom kosti (82). Ovo tkivo se zatim remodeluje u lamelarnu kost koja je u direktnom kontaktu sa većim delom površine implantata, čime je završen biološki proces oseointegracije (145).

Kliničko iskustvo pokazuje da do neuspeha i odbacivanja implantata najčešće dolazi u ranim fazama procesa oseointegracije (146), što naročito dobija na značaju imajući u vidu tendenciju sve učestalije primene protokola ranog i imedijatnog opterećenja implantata.

Rezultati kliničkih studija ukazuju na veći procenat uspešnosti implantatne terapije u donjoj vilici u odnosu na gornju, a naročito na njen bočni segment (147, 148). Smatra se da je glavni uzrok ove razlike lošiji kvalitet kosti koji se sreće u bočnoj regiji gornje vilice (63). U kosti lošijeg kvaliteta, koji podrazumeva manju gustinu, optimalnu primarnu stabilnost implantata je teško postići, te se zbog toga beleži veći procenat neuspeha terapije kod implantata ugrađenih u ovakvu kost (63).

Savremena istraživanja u oblasti implantologije su usmerena na povećanje predvidivosti i optimizaciju terapije implantatima (143), sa ciljem da se pronade

materijal/sredstvo/biološki faktor čija bi primena dovela do skraćanja vremena potrebnog za potpunu rehabilitaciju pacijenta uz fiziološki odgovor tkiva tj. finu koordinaciju svih učesnika procesa oseintegracije (144).

Iako usvojena kao pouzdana metoda u lečenju različitih stanja i oboljenja usne duplje (7), sa dokazanim stimulatornim dejstvom na zarastanje koštanog tkiva, mogućnosti primene TLMS u implantologiji još uvek su nedovoljno ispitane. Klinička primena u drugim oblastima stomatologije je pokazala neškodljivost, lakoću primene i pouzdanost ovog vida terapije.

U implantologiji, istraživanja su pre svega usmerena na mogućnosti LMS da skrate vreme zarastanja po ugradnji implantata i unaprede složeni i relativno spori proces regeneracije kosti koji se odvija pod dejstvom brojnih biohemijskih, biomehaničkih, ćelijskih, hormonskih i patoloških uticaja (149).

Rezultati eksperimentalnih studija pokazuju da TLMS u *in vitro* uslovima stimuliše proliferaciju, diferencijaciju i vezivanje koštanih ćelija za implantat (127). Primena LMS utiče na pojačanu ekspresiju osteoprotegrina, receptora aktivatora nuklearnog faktora $\kappa\beta$, što rezultuje pojačanjem metaboličke aktivnosti koštanih ćelija (150, 151).

Eksperimenti na animalnim modelima pokazuju da TLMS odmah po inserciji implantata, u ranom postoperativnom periodu, doprinosi mehaničkom jačanju veze implantata i kosti (135, 141).

Histomorfometrijska analiza je utvrdila stvaranje značajno veće količine nove kosti oko implantata u zračevoj grupi i veće kontaktne površine između implantata i kosti (135, 140, 152), uz pojačanu depoziciju kalcijuma i fosfora u odnosu na kontrolnu grupu, što govori u korist stimulisane diferencijacije osteoblasta TLMS (135) i potvrđuje pozitivni efekat LMS na formiranje kosti *de novo* i njenu mineralizaciju.

U animalnoj studiji na babunima, zračenje mesta implantacije laserom male snage, neposredno pre i odmah po implantaciji, dovelo je do značajnog povećanja broja vijabilnih osteocita u neposrednom okruženju implantata petog dana nakon hirurgije, u poređenju sa nezračenom kosti (153). Ovo potvrđuje da je više vitalnog koštanog tkiva prisutno u zračenoj regiji i da se može očekivati ubrzano zarastanje rane kao i oseointegracija implantata (153).

Iako se smatra se da bi terapija laserom male snage mogla imati pozitivnu ulogu u procesu zarastanja nakon ugradnje implantata, modulacijom reakcija različitih tkiva, uticajem na protok krvi, inflamaciju, ćelijsku proliferaciju i/ili diferencijaciju (149) o čemu svedoče rezultati brojnih *in vitro* i *in vivo* studija, literaturni podaci o uticaju TLMS na oseointegraciju implantata u kliničkim uslovima praktično ne postoje.

CILJEVI

Rezultati kliničkih studija svedoče o pozitivnom uticaju lasera male snage na koštano zarastanje, a brojna *in vitro* i *in vivo* istraživanja ukazuju na mogući benefit ove metode u procesu oseintegracije implantata. Imajući u vidu potrebu da se u određenim nepovoljnijim situacijama ovaj proces učini predvidljivijim, a pre svega neophodnost naučne potvrde uticaja primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na oseintegraciju dentalnih implantata, postavljeni su sledeći ciljevi istraživanja:

1) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na primarnu i sekundarnu stabilnost dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine;

2) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na aktivnost alkalne fosfataze u periimplantatnoj tečnosti dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine;

3) Ispitati uticaj primene lasera male snage u ranom postoperativnom periodu na rani uspeh oseintegracije dentalnih implantata ugrađenih u kost male gustine.

MATERIJAL I METOD

Kontrolisana randomizovana klinička studija je sprovedena na Klinici za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu poštujući odredbe Helsinške deklaracije iz 1975. godine, odnosno njene revizije iz 2002. godine. Protokol je odobren od strane Etičkog komiteta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (br. 36/22) (Tabela 3).

Tabela 3. Protokol studije

DAN 0	DAN 1-6	NEDELJA I	NEDELJA II-IV	NEDELJA V-VI
UGRADNJA IMPLANTATA		UKLANJANJE KONACA		
TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE	TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE	TERAPIJA LASEROM MALE SNAGE		
		PRIKUPLJANJE PIST	PRIKUPLJANJE PIST	
MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA		MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA	MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA	MERENJE STABILNOSTI IMPLANTATA

Pacijenti su dali pismenu saglasnost za učestvovanje u studiji pošto im je prethodno objašnjena svrha ispitivanja, kao i postupci koji će biti primenjeni, prednosti i moguće komplikacije planiranog terapijskog postupka, kao i alternativni terapijski modaliteti.

Nakon popunjavanja upitnika i anamnestičke obrade pacijenta, pristupalo se radiološkoj dijagnostici anatomskih karakteristika regije implantacije koja je podrazumevala ortopantomografsko snimanje i *cone-beam* kompjuterizovanu tomografiju (*Galileos, Sirona, Bensheim, Nemačka*). Radiološku analizu je sledio

klinički pregled, nakon čega je donošena odluka o uključivanju pacijenta u studiju, kao i definisanje plana terapije.

4.1. PACIJENTI

U studiji je učestvovalo 12 pacijenata (6 muškaraca i 6 žena) koji su se javili na Kliniku za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu radi sanacije umetnute ili terminalne krezubosti bočnog segmenta gornje vilice dentalnim implantatima.

Osnovni kriterijum za uključivanje pacijenta u studiju je bio obostrani simetrični nedostatak jednog ili više zuba u bočnim regijama gornje vilice (Slike 14. i 15).



Slika 14. Ortopantomogram pacijenta. Planirana je ugradnja implantata u regijama nedostajućih gornjih prvih premolara.



Slika 15. Klinička slika.

Da bi pacijent učestvovao u studiji morao je ispunjavati sledeće kriterijume:

- Opšte stanje:
 - 1) starost preko 18 godina,
 - 2) odsustvo trudnoće i dojenja,
 - 3) odsustvo sistemske bolesti koja kompromituje oseointegraciju,
 - 4) da nije na antikoagulantnoj terapiji,
 - 5) da nije na sistemske terapiji glukokortikoidima,
 - 6) da nije zračen u kranio-facijalnoj regiji u prethodnih 12 meseci,
 - 7) ne puši više od 10 cigareta dnevno;

- Lokalni činioci:

- 1) od ekstrakcije koja je prethodila bezubosti date regije je prošlo više od 6 meseci,
- 2) nije prisutan znatniji defekt bukalne i/ili palatinalne lamele u regiji implantacije kao posledica vađenja zuba,
- 3) ne postoji potreba za augmentacionom procedurom,
- 4) nije prisutna akutna infekcija usne duplje,
- 5) nije prisutna nekontrolisana ili nelečena parodontalna bolest.

4.2. HIRURŠKI PROTOKOL

Prateći *split-mouth* dizajn studije, 44 samourezujućih *blueSky*® implantata (*bredent GmbH & Co.KG*, Senden, Nemačka; Slika 16), prečnika 4mm i dužine 10mm, ugrađeno je na simetričnim pozicijama obe strane bočnog segmenta gornje vilice svakog pacijenta.

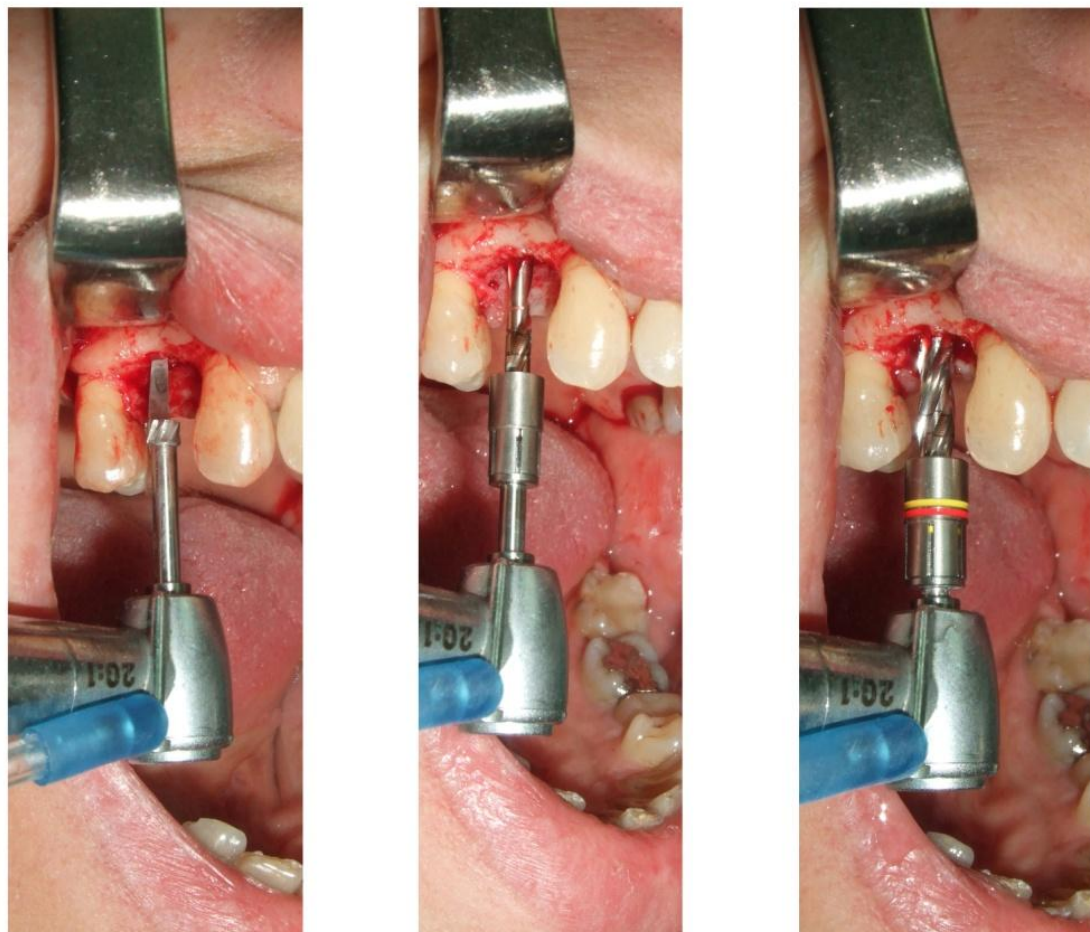


Slika 16. Samourezujući implantat (*blueSky*®, *bredent GmbH & Co.KG*, Senden, Nemačka)

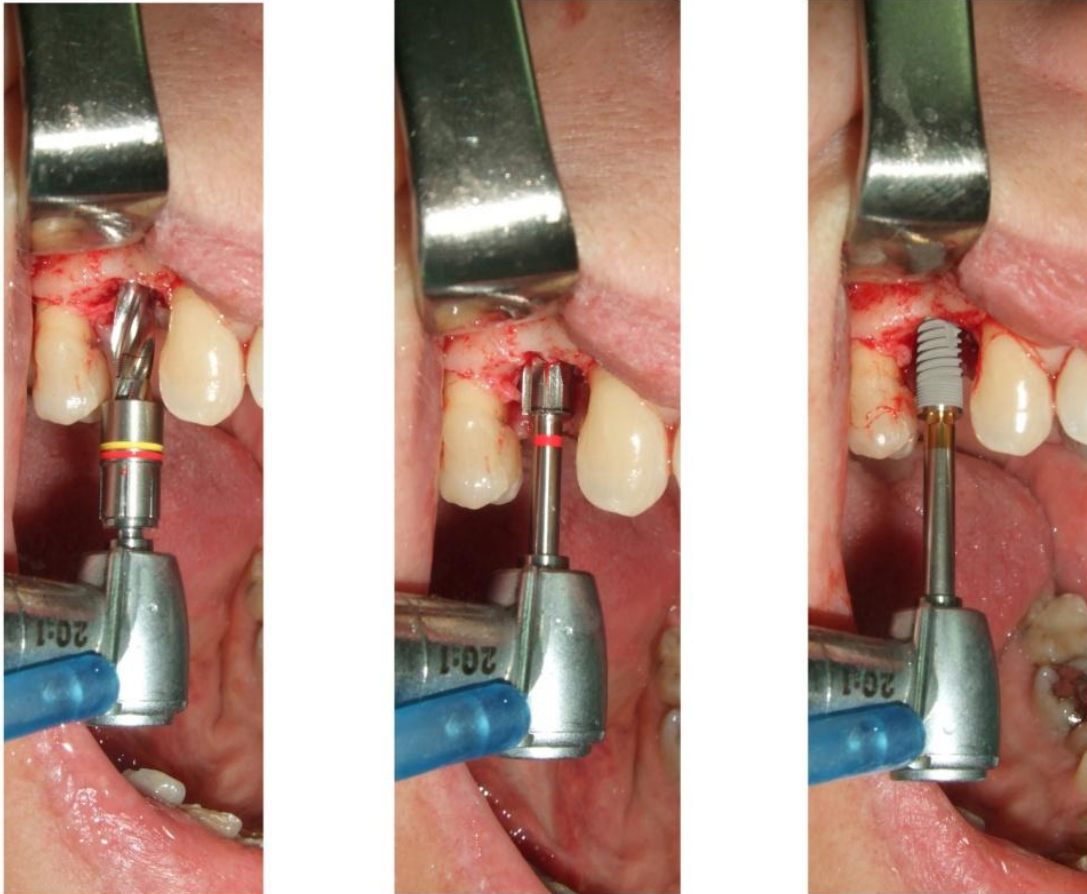
Predeo predviđen za ugradnju implantata anestetiziran je lokalnim anestetičkim rastvorom *Xylestesin*® (*3M ESPE Dental AG*, Seefeld, Nemačka; 2% lidokain-hidrochlorid sa adrenalinom (1:80 000)).

Nakon incizije sredinom alveolarnog grebena i kroz sulkus susednih zuba, odignut je mukoperiostalni režanj i učinjena preparacija implantatnog ležišta standardnom hirurškom tehnikom koristeći borere rastućeg dijametra (Slika 17-20).

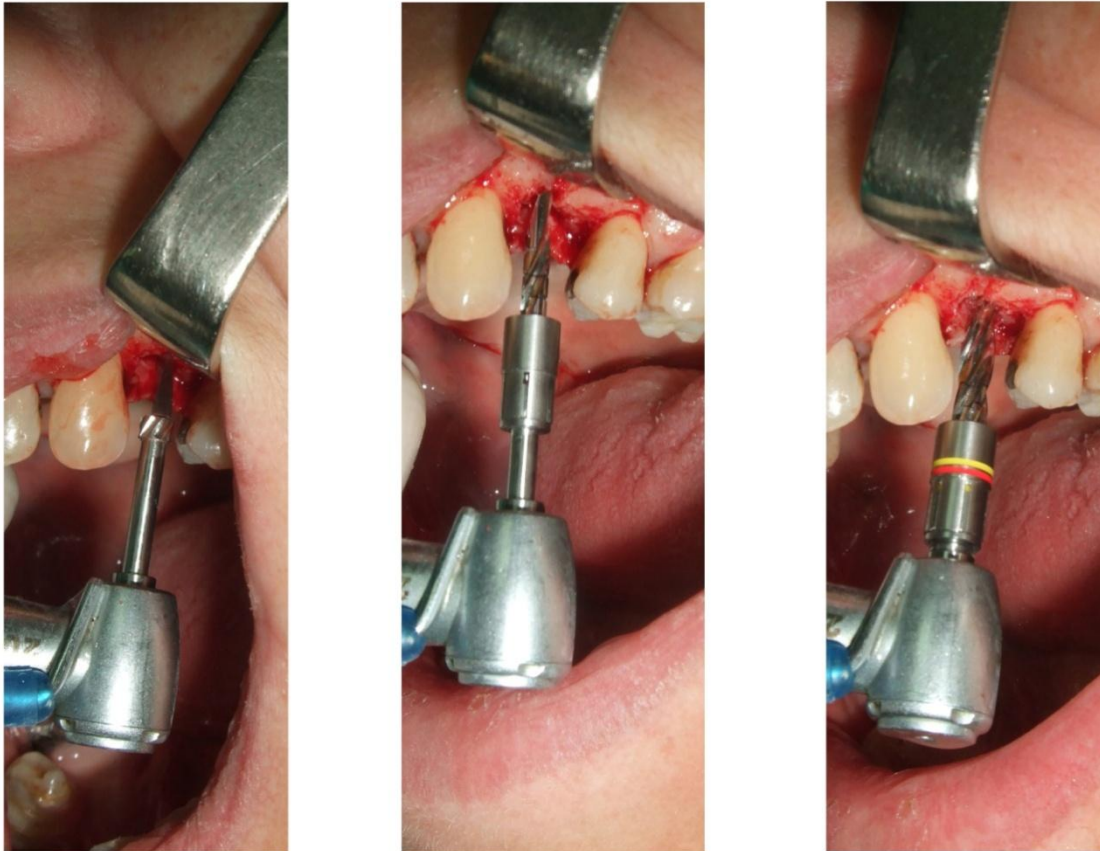
Sa obe strane gornje vilice svakog pacijenta ugrađeni su implantati prema protokolu koji predviđa proizvođač (Slika 17-20, 22). Implantati su ugrađivani mašinski, brzinom podešenom na 15 o/min, i obrtnim momentom od 35 Ncm.



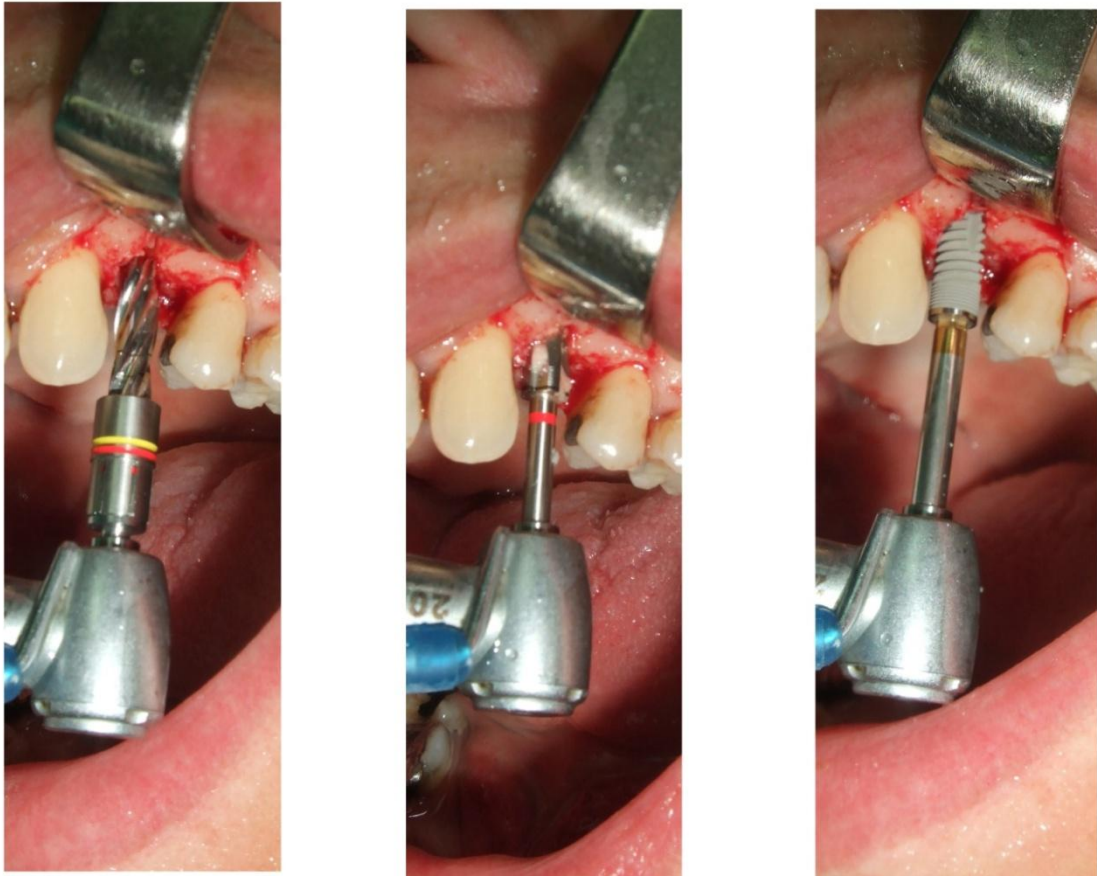
Slika 17. Preparacija implantatnog ležišta u regiji prvog premolara sa desne strane gornje vilice standardnom hirurškom tehnikom prema protokolu proizvođača: a) trepanacija kortikalne kosti i markiranje mesta ugradnje *pilot* borerom; b) određivanje dubine i pravca ležišta *twist* borerom; c) proširivanje ležišta implantata borerom za rad u mekoj kosti promera 3.0mm



Slika 18. Preparacija implantatnog ležišta u regiji prvog premolara sa desne strane gornje vilice standardnom hirurškom tehnikom prema protokolu proizvođača: a) preparacija ležišta implantata finalnim borerom za rad u mekoj kosti promera 3.5mm; b) oblikovanje kortikalne kosti finalnim cilindričnim borerom promera 4.0mm; c) mašinska ugradnja implantata u pripremljeno ležište



Slika 19. Preparacija implantatnog ležišta u regiji prvog gornjeg premolara sa leve strane vilice standardnom hirurškom tehnikom prema protokolu proizvođača: a) trepanacija kortikalne kosti i markiranje mesta ugradnje *pilot* borerom; b) određivanje dubine i pravca ležišta *twist* borerom; c) proširivanje ležišta implantata borerom za rad u mekoj kosti promera 3.0mm



Slika 20. Preparacija implantatnog ležišta u regiji prvog premolara sa leve strane gornje vilice standardnom hirurškom tehnikom prema protokolu proizvođača: a) preparacija ležišta implantata finalnim borerom za rad u mekoj kosti promera 3.5mm; b) oblikovanje kortikalne kosti finalnim cilindričnim borerom promera 4.0mm; c) mašinska ugradnja implantata u pripremljeno ležište

Nakon ugradnje implantata, postavljene su kapice za zarastanje, režanj je reponiran i ušiven pojedinačnim šavovima, i omogućeno je transmukozno zarastanje (Slika 21). Tokom celokupnog opservacionog perioda u trajanju od šest nedelja, pacijenti nisu imali privremene zubne nadoknade.



Slika 21. Mukoperiostalni režnjevi su reponirani i ušiveni pojedinačnim šavovima.



Slika 22. Kontrolni retroalveolarni radiogrami regija prvih gornjih premolara gde su ugrađeni implantati

Pacijentima je neposredno nakon intervencije ordinirana antibiotska terapija: amoksicilin (*Sinacilin*®, *Galenika*, Beograd, Srbija) 1,5g dnevno, a u slučaju alergije na penicilin, klindamicin (*Clindamycin-MIP*®, *MIP-PHARMA*, Beograd, Srbija) 1,8 g dnevno, podeljena u 3 doze u trajanju od 5 dana. Pacijentima je dat savet o higijensko-dijetetskom režimu, a uklanjanje konaca je vršeno 7 postoperativnog dana.

4.3. RADIJACIONI PROTOKOL

Metodom slučajnog izbora (kompjuterski generisanim slučajnim brojevima) jednoj od strana gornje vilice svakog pacijenta dodeljena je dodatna terapija laserom male snage (eksperimentalna grupa). Druga strana gornje vilice istog pacijenta je bila bez TLMS i služila je kao kontrola. Korišćen je galijum-aluminijum-arsenidski (Ga-Al-As) laser (*Medicolaser 637, Technoline, Beograd, Srbija*), snage 40mW i talasne dužine 637nm, sa kontinuiranim režimom rada (Slika 23).



Slika 23. Galijum-aluminijum-arsenidski laser - *Medicolaser 637 (Technoline, Beograd, Srbija)*

Predeo implantata odabrane strane vilice zračen je laserom male snage intraoralno, normalno na uzdužnu osu implantata (Slika 24).



Slika 24. Primena lasera male snage.

Prva radijaciona doza usledila je odmah po intervenciji, a zračenje je nastavljeno na isti način svakodnevno, narednih 7 dana . Tretman je trajao 5 minuta, a zračna doza po tretmanu je iznosila $6,26 \text{ J/cm}^2$.

Svaki zračeni implantat eksperimentalne grupe imao je kao kontrolu implantat ugrađen na simetričnoj poziciji suprotne strane vilice datog pacijenta.

Eksperimentalnu grupu je činilo 22 implantata sa TLMS, a kontrolnu 22 implantata bez TLMS.

4.4. PROCENA OSEOINTEGRACIJE IMPLANTATA

Sva izvedena merenja su bila dvostruko slepa budući da ni ispitivači koji su ih izvodili, ni pacijenti, nisu znali koji su implantati uključeni u terapiju laserom male snage.

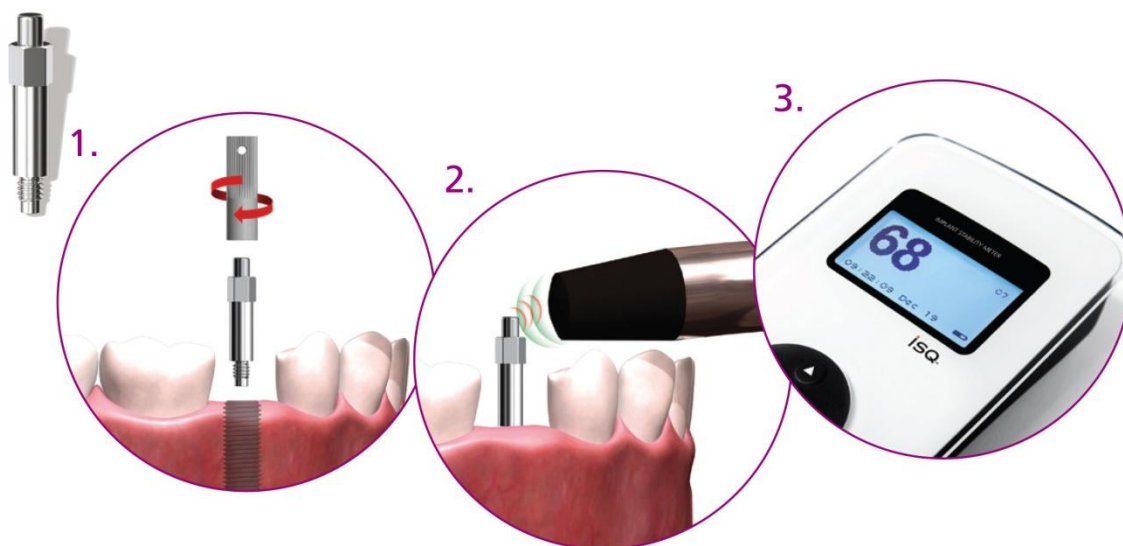
4.4.1. ANALIZA REZONANTNE FREKVENCIJE

Stabilnost implantata je merena metodom analize rezonantne frekvencije (engl. *Resonance Frequency Analysis - RFA*) korišćenjem aparata *Osstell Mentor®* (*Integration Diagnostics, Göteborg, Sweden*) (Slika 25).



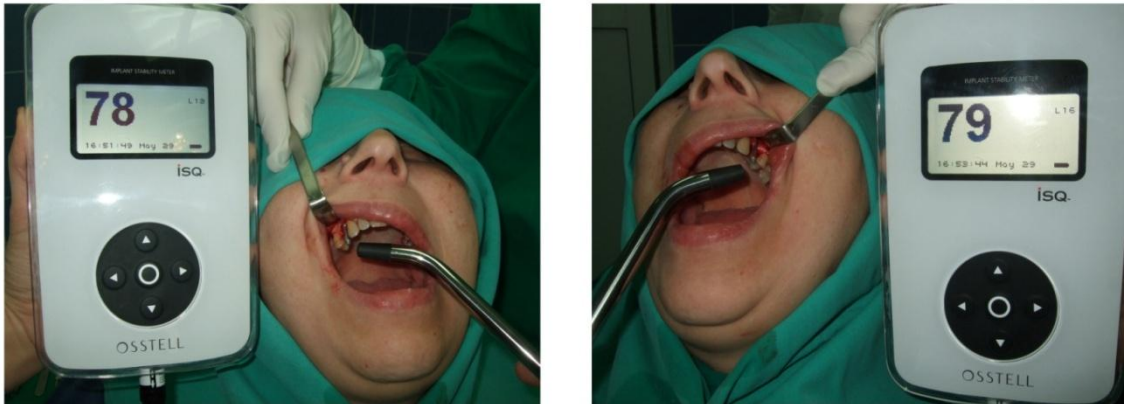
Slika 25. *Ostell Mentor®* aparatura. 1. aparat, 2. sonda aparata, 3. utikač, 4. USB kabal, 5. test uređaj (65).

Standardizovani nastavak (*SmartPeg™ Integration Diagnostics, Göteborg, Sweden*; Slika 26) je postavljan i ručno zašrafljen u implantat. Sonda predajnika aparata (*Osstell™ Mentor Probe*) je usmerena na mali magnet na vrhu *SmartPeg™*-a i držana na udaljenosti 2-3mm dok se ne čuje signal i na ekranu aparata pokaže rezultat (Slika 26). Tri puta uzastopno dobijen identičan rezultat je zabeležen.



Slika 26. U gornjem levom uglu prikazan je *SmartPeg™* nastavak. 1. Ručno šrafljenje *SmartPeg™*-a u implantat; 2. Sonda predajnika aparata usmerena na vrh *SmartPeg™*-a na udaljenosti 2-3mm; 3. Rezultat merenja se prikazuje na displeju aparata i izražava kao vrednost koeficijenta stabilnosti (65).

Odmah po ugradnji, neposredno pre ušivanja, izvršeno je merenje primarne stabilnosti implantata (Slika 27), a stabilnost implantata beležena je i na kontrolnim pregledima 1, 2, 3, 4, 5. i 6. nedelje po ugradnji, nakon ručnog uklanjanja zaštitne kapice.



Slika 27. Merenje postignute primarne stabilnosti *RFA* metodom.

4.4.2. PROCENA AKTIVNOSTI OSTEOLASTA I INTENZITETA REMODELACIJE KOSTI

4.4.2.1. PRIKUPLJANJE PERIIMPLANTATNE SULKUSNE TEČNOSTI

Prikupljanje periimplantatne sulkusne tečnosti (PIST) vršeno je 7, 14, 21. i 28. postoperativnog dana (Slika 28).



Slika 28. Prikupljanje periimplantatne sulkusne tečnosti sterilnim papirnim poenima.

Da bi se izbegla mehanička iritacija, kontaminacija krvlju, kao i moguća stimulacija PIST, uzorci su uzimani pre merenja stabilnosti implantata korišćenjem standardizovanih sterilnih papirnih poena *Periopaper*® (N° 593525, Oraflow Inc, Amityville NY).

Nakon izolacije sterilnim tupferima i gazom, i uklanjanja supragingivalnog plaka sterilnim pamučnim kuglicama, regija implantata je posušena vazduhom da bi se izbegla kontaminacija plakom i pljuvačkom. Posebno se vodilo računa da se umanjí mehanička iritacija tokom uzorkovanja, budući da bi mogla uticati na volumen prikupljene PIST (98).

Sterilni papirni poen je postavljan na otvor periimplantatnog sulkusa, zatim potisnut do pojave minimalnog otpora i zadržan u mestu 60 s. Papirni poeni sa vidljivom kontaminacijom krvlju su odbačeni.

Papirni poen sa PIST jednog implantata stavljen je u sterilnu ependorf tubu i korišćen za određivanje aktivnosti alkalne fosfataze.

4.4.2.2. MERENJE AKTIVNOSTI ALKALNE FOSFATAZE

Dvadeset mikrolitara destilovane vode je dodato svakom uzorku. Tube su zatim energično mućkane 1min, a potom centrifugirane na 2000g tokom 5min.

Aktivnost alkalne fosfataze je merena spektrofotometrijski, aparatom *Secomam Basic*, Francuska. U osnovi metode (154) je obojena reakcija hidrolize bezbojnog supstrata p-nitrofenil fosfata i alkalne fosfataze, u prisustvu jona magnezijuma, pri čemu nastaje žuto-obojeni produkt p-nitrofenol i neorganski fosfat. Reakcija 10 µl uzorka i 500 µl radnog reagensa se odvija na temperaturi 37°C, a stepen rasta apsorbance se meri nakon prvog minuta, a zatim u intervalima od 1min i očitava nakon 4min na 405nm. Aktivnost alkalne fosfataze je izražena u U/uzorak, gde je U

(internacionalna jedinica) količina enzima koja katalizuje oslobađanje 1 μmol p-nitrofenola u minuti na 37°C.

4.4.3. PROCENA RANOG USPEHA TERAPIJE

Rani uspeh terapije je procenjivan nakon šeste postoperativne nedelje korišćenjem kriterijuma po *Buser-u* (155): 1) odsustvo ponavljajuće periimplantatne infekcije praćene supuracijom, 2) odsustvo subjektivnih tegoba poput bola, osećaja stranog tela i/ili poremećaja osećaja, 3) odsustvo kontinuirane zone rasvetljenja oko implantata na radiografijama i 4) odsustvo svake detektabilne pokretljivosti implantata.

4.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Za statističku obradu podataka korišćen je računarski softver *SPSS® 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)*. Jedinica statističke analize je bio svaki pojedinačni implantat.

Vrednosti dobijenih podataka istraživanja su opisane primenom mera centralne tendencije (srednja vrednost i medijana) i mera varijabiliteta (standardna devijacija, minimalna vrednost, maksimalna vrednost, 95% interval poverenja).

Test *Kolmogorov-Smirnov-a* za jedan uzorak je korišćen za ispitivanje normalnosti raspodele podataka.

U analizi promene stabilnosti implantata, kao i aktivnosti ALP tokom opservacionog perioda korišćena je analiza varijanse ponovljenih merenja (*RM ANOVA*), koju je sledio test najmanje značajne razlike (*LSD test*) u cilju utvrđivanja razlika unutar grupa (eksperimentalne i kontrolne grupe) u različitim opservacionim vremenima. Statistička značajnost razlike podataka za posmatrana obeležja (stabilnost implantata i aktivnost ALP) između kontrolne i eksperimentalne grupe u

određenom vremenu posmatranja ispitivana je korišćenjem t-testa za vezane uzorke budući da su poređeni podaci implantata identičnih simetrično postavljenih pozicija gornje vilice pacijenata (*split-mouth* dizajn).

Statistička značajnost svih testova je definisana kao $p < 0,05$.

REZULTATI

Kod dvanaest pacijenata koji su učestvovali u studiji ugrađeno je ukupno 44 implantata. Kod jednog pacijenta muškog pola, starosti 68 godina, 4 ugrađena implantata nisu imala adekvatnu primarnu stabilnost da bi se mogao primeniti jednofazni hirurški metod. Implantati su pokriveni, a pacijent je isključen iz studije. Preostalih jedanaest pacijenata oba pola (6 žena i 5 muškaraca), prosečne starosti 61,28 godina (raspona od 55 do 75 godina) uspešno su završili kompletan studijski protokol. Njima je ugrađeno ukupno 40 implantata, u regijama premolara i/ili molara gornje vilice, obostrano, pri čemu su po 20 implantata simetrično postavljenih slučajno odabrani i uvršteni u jednu od dve grupe, eksperimentalnu (sa dodatnom TLMS) i kontrolnu (bez dodatne TLMS), koje su bile predmet statističke analize. Ukupni period praćenja po pacijentu je bio šest nedelja.

5.1. STABILNOST IMPLANTATA

Tokom šestonedeljnog opservacionog perioda u eksperimentalnoj grupi zabeležene su statistički značajne promene stabilnosti implantata ($p=0.016$) (Tabela 4, Grafikon 1). Najveća stabilnost je postignuta neposredno nakon ugradnje, a zatim je značajno opala u drugoj, trećoj i četvrtoj postoperativnoj nedelji ($p=0.029$; $p=0.007$; $p=0.008$; redom) u kojoj je zabeležena najniža vrednost koeficijenta stabilnosti. U petoj nedelji stabilnost raste, da bi u šestoj opet pala, međutim u obe opservacione tačke ostaje statistički značajno niža od vrednosti stabilnosti nakon ugradnje ($p=0.017$; $p=0.005$; redom). Promene vrednosti koeficijenta stabilnosti implantata između dva susedna uzastopna merenja u eksperimentalnoj grupi nisu bila statistički značajna ($p>0.05$).

U kontrolnoj grupi su tokom vremena zabeležene statistički značajne promene stabilnosti implantata ($p=0.023$) (Tabela 4, Grafikon 1). Najveća stabilnost implantata je zabeležena u prvoj postoperativnoj nedelji, da bi zatim značajno opala u drugoj i trećoj nedelji ($p=0.047$; $p=0.044$; redom). Pad stabilnosti se nastavio i u četvrtoj

nedelji ($p=0.234$), kada je vrednost koeficijenta bila ujedno i najniža izmerena tokom celog opservacionog perioda i statistički značajno niža od vrednosti prilikom ugradnje ($p=0.039$). Do kraja opservacionog perioda stabilnost je rasla ($p=0.401$ u petoj i $p=0.110$ u šestoj postoperativnoj nedelji), pri čemu je stabilnost u petoj nedelji bila statistički značajno niža od vrednosti prilikom ugradnje ($p=0.029$), dok se u šestoj ona nije značajno razlikovala ($p=0.074$).

Tabela 4. Deskriptivna statistika za merenja stabilnosti implantata metodom *RFA* u test i kontrolnoj grupi implantata

Vreme	Grupa	Aritm. sred.	Md	SD	Min	Max	95% CI
Ugradnja	Test	76.00	75.5	3.52	70	82	74.25 - 77.75
	Kontrola	72.89	74.5	7.15	56	80	69.33 - 76.45
I ned	Test	74.88	75	3.40	70	82	73.06 - 76.69
	Kontrola	74.69	74.5	4.80	67	84	72.13 - 77.24
II ned	Test	74.22	74	3.93	68	81	72.27 - 76.18
	Kontrola	72.56	72.5	5.67	61	80	69.74 - 75.37
III ned	Test	72.67	73	3.65	61	77	70.85 - 74.48
	Kontrola	70.44	70	6.16	55	80	67.38 - 73.51
IV ned	Test	72.50	73	4.18	60	77	70.42 - 74.58
	Kontrola	69.22	70	9.09	39	79	64.70 - 73.74
V ned	Test	72.94	73.5	3.92	63	79	71.00 - 74.89
	Kontrola	69.83	71.5	7.03	48	78	66.34 - 73.33
VI ned	Test	72.67	73.5	3.69	63	78	70.83 - 74.50
	Kontrola	70.61	72	7.20	52	79	67.03 - 74.19

Rezultati su izraženi kao koeficijent stabilnosti implantata (ISQ).

Komparativna analiza je pokazala da su vrednosti ISQ u eksperimentalnoj grupi bile veće u odnosu na kontrolnu grupu tokom celog šestonedelnog opservacionog perioda. Razlika je statistički značajna u petoj nedelji (p=0.030) (Tabela 5).

Tabela 5. Komparativna analiza stabilnosti implantata kontrolne i test grupe

Vreme	Test	Kontrola	95% CI za MD ^a	P ^b vrednost
Ugradnja	76.00 ± 3.52	72.89 ± 7.15	-0.78177 - 7.00399	0.110
I nedelja	74.88 ± 3.40	74.69 ± 4.80	-3.45378 - 3.82878	0.914
II nedelja	74.22 ± 3.93	72.56 ± 5.67	-1.73616 - 5.06950	0.316
III nedelja	72.67 ± 3.65	70.44 ± 6.16	-0.88360 - 5.32805	0.150
IV nedelja	72.50 ± 4.18	69.22 ± 9.09	-0.72534 - 7.28089	0.102
V nedelja	72.94 ± 3.92	69.83 ± 7.03	0.34554 - 5.87668	0.030*
VI nedelja	72.67 ± 3.69	70.61 ± 7.20	-0.60045 - 4.71157	0.121

Stabilnost implantata je izražena kao srednja vrednost koeficijenta stabilnosti (ISQ) ±SD.

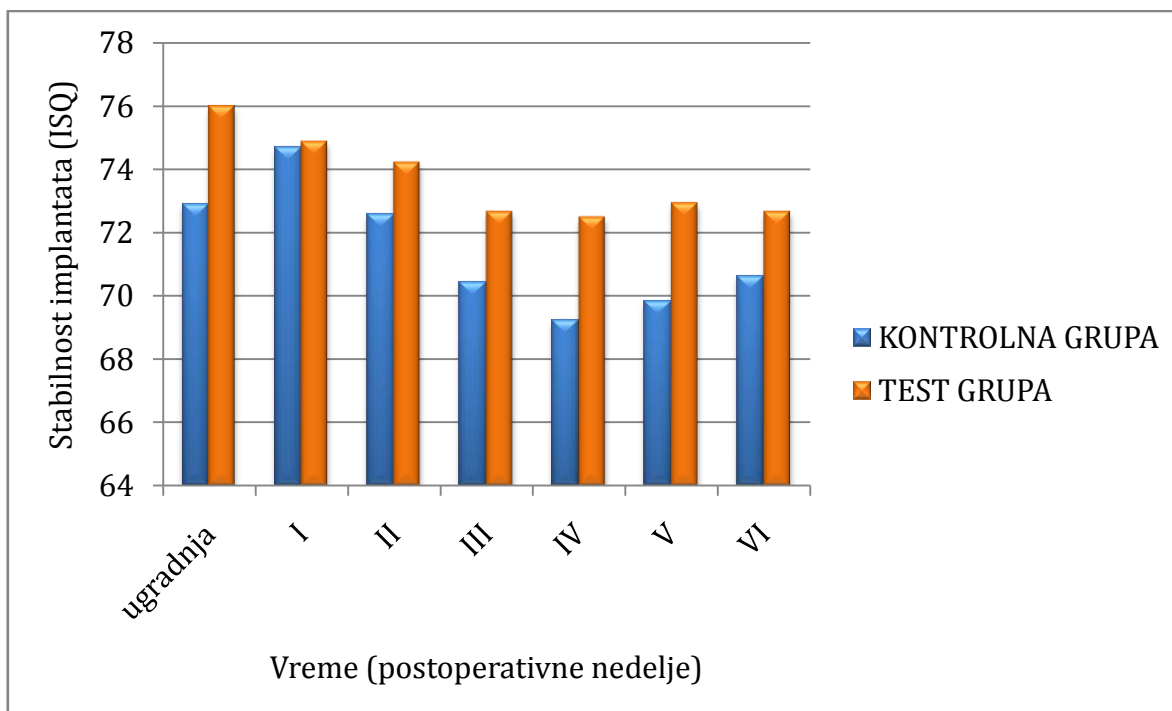
^a Razlika aritmetičkih sredina

^b T- test za vezane uzorke

* Statistička značajnost

Najveća stabilnost implantata je postignuta u eksperimentalnoj grupi, neposredno nakon ugradnje. U obe grupe se pad stabilnosti (najniža vrednost koeficijenta stabilnosti) beleži u četvrtoj postoperativnoj nedelji, pri čemu je najmanja vrednost izmerena u kontrolnoj grupi (Grafikon 1).

Grafikon 1. Uticaj primene lasera male snage na stabilnost implantata merenu metodom analize rezonantne frekvencije



5.2. AKTIVNOST ALKALNE FOSFATAZE

U eksperimentalnoj grupi tokom četvoronedeljnog opservacionog perioda zabeležene su statistički značajne promene aktivnosti ALP ($p < 0.0005$) (Tabela 6, Grafikon 2). Najveća vrednost je izmerena u prvoj postoperativnoj nedelji nakon čega značajno opada u drugoj nedelji ($p \leq 0.005$). Pad aktivnosti ALP se nastavio i u trećoj nedelji ($p = 0.175$), da bi u četvrtoj nedelji aktivnost ALP počela da raste ($p = 1.000$). Vrednosti aktivnosti ALP u drugoj, trećoj i četvrtoj nedelji su bile statistički značajno manje u odnosu na prvu postoperativnu nedelju ($p \leq 0.0005$; $p \leq 0.0005$; $p = 0.010$; redom).

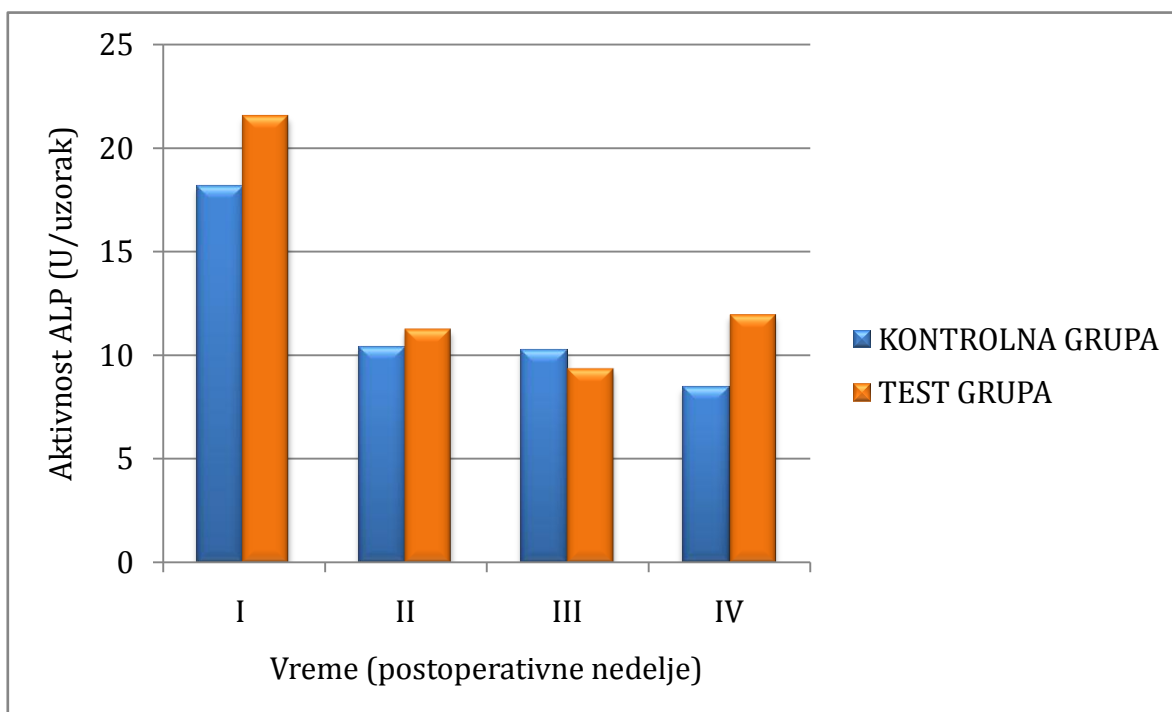
Tabela 6. Deskriptivna statistika za spektrofotometrijska merenja alkalne fosfataze u test i kontrolnoj grupi implantata

Vreme	Grupa	Aritm.					
		sred.	Md	SD	Min	Max	95% CI
I nedelja	Test	21.53	24.47	6.65	9.87	30.13	18.22 - 24.84
	Kontrolna	18.16	17.92	5.11	9.73	26.87	15.62 - 20.71
II nedelja	Test	11.26	10.40	4.64	4.48	17.77	8.95 - 13.57
	Kontrolna	10.39	9.35	4.05	4.68	17.17	8.23 - 12.55
III nedelja	Test	9.36	8.82	4.23	4.20	19.32	7.25 - 11.46
	Kontrolna	10.22	8.50	4.26	3.08	17.92	8.03 - 12.41
IV nedelja	Test	11.96	8.89	8.34	5.46	39.92	7.81 - 16.10
	Kontrolna	8.45	7.47	3.46	3.05	18.97	6.73 - 10.17

Rezultati su izraženi kao U/uzorak, gde U (*International unit*) predstavlja količinu enzima koja katalizuje oslobađanje 1 μmol p-nitrofenola u minuti na 37°C.

U kontrolnoj grupi aktivnost ALP se značajno menjala tokom četiri nedelje ($p < 0.0005$) (Tabela 6, Grafikon 2). Najveća aktivnost ALP je zabeležena u prvoj postoperativnoj nedelji, nakon čega opada do kraja četvrte nedelje. Ovaj pad je statistički značajan u drugoj, trećoj i četvrtoj nedelji ($p = 0.006$; $p = 0.003$; $p < 0.0005$; redom) u poređenju sa prvom. Promena aktivnosti ALP između druge i treće, i treće i četvrte postoperativne nedelje nije bila statistički značajna ($p = 1.000$, $p = 0.743$, redom).

Grafikon 2. Uticaj primene lasera male snage na spektrofotometrijski merenu aktivnost alkalne fosfataze u periimplantatnoj sulkusnoj tečnosti



Vrednosti aktivnosti ALP su tokom celog četvoronedeljnog opservacionog perioda, osim u trećoj postoperativnoj nedelji bile veće u eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu, mada razlika između grupa ni u jednom posmatranom vremenskom periodu nije dostigla statističku značajnost (Tabela 7).

Tabela 7. Razlike u aktivnosti alkalne fosfataze u periimplantatnoj tečnosti implantata test i kontrolne grupe

Vreme	Test	Kontrola	95% CI za MD ^a	p ^b
				vrednost
I nedelja	21.53±6.65	18.16±5.11	-0.50252 - 7.24085	0.084
II nedelja	11.26±4.64	10.39±4.05	-0.26683 - 3.42371	0.088
III nedelja	9.36±4.23	10.22±4.26	-2.77642 - 1.61913	0.584
IV nedelja	11.96±8.34	8.45±3.46	-0.85890 - 7.87234	0.108

Aktivnost alkalne fosfataze je izražena u U/uzorak kao aritmetička sredina±SD.

^a Razlika aritmetičkih sredina

^b T-test za vezane uzorke

Aktivnost ALP se tokom vremena različito menjala u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi (Grafikon 2). Nakon inicijalnog, statistički značajnog, pada u drugoj u odnosu na prvu nedelju, koji se u obe grupe nastavio i u trećoj, a u kontrolnoj grupi i u četvrtoj nedelji, u eksperimentalnoj grupi se beleži porast aktivnosti ALP koji dostiže vrednosti slične onima u drugoj postoperativnoj nedelji (p=1.000).

5.3. RANI USPEH TERAPIJE

Procenat ranog uspeha terapije šest nedelja nakon ugradnje implantata je iznosio 100% u obe grupe, bez obzira na primenjenu dodatnu TLMS.

Ni u jednoj od grupa, eksperimentalnoj ni kontrolnoj, nije postojala ponavljajuća periimplantatna infekcija praćena supuracijom, kao ni subjektivne tegobe poput bola, osećaja stranog tela i/ili poremećaja osećaja. Na kontrolnim radiografijama nalaz je bio uredan kod svih implantata i u eksperimentalnoj i u kontrolnoj grupi, bez kontinuirane zone rasvetljenja oko implantata. Takođe, nije zabeležena pokretljivost implantata ni u jednoj od grupa.

DISKUSIJA

Oseointegracija se smatra osnovnim preduslovom za povoljnu dugoročnu prognozu terapije dentalnim implantatima. Imajući to u vidu, sve veći broj istraživanja je usmeren ka pronalaženju dopunskih hemijskih, bioloških i biofizičkih metoda koje bi doprinele poboljšanom i ubrzanom zarastanju na spoju implantata i kosti (6).

Ova randomizovana, duplo-slepa, *split-mouth* klinička studija se bavila ispitivanjem uticaja postoperativne primene LMS na oseointegraciju samourezujućih implantata u bočnoj regiji gornje vilice. Korišćen je Ga-Al-As laser talasne dužine 637nm i izlazne snage 40mW, a ukupna zračna doza po implantatu je iznosila 6,26 J/cm². Namera je bila da se ispita uticaj terapije LMS na oseointegraciju implantata u premolarnoj i/ili molarnoj regiji maksile, budući da je ovo regija sa najmanje predvidivim ishodom terapije implantatima (91), a gde bi eventualna primena LMS bila klinički značajna.

Rezultati studije pokazuju da postoperativna terapija LMS nije značajno uticala na oseointegraciju samourezujućih implantata ugrađenih u kost male gustine bočnih regija gornje vilice.

Primenjeni Ga-Al-As laser je izabran zbog svog pozitivnog uticaja na koštanu regeneraciju, o čemu svedoče studije na animalnim modelima (137) i kliničke studije (10, 11). Pokazano je da terapija LMS značajno utiče na povećanje proliferacije osteoblasta, depoziciju kolagena i formiranje nove kosti u zračevoj u odnosu na nezračenu kost (124, 137).

Smatra se da primena terapije LMS nakon ugradnje titanijumskog implantata promoviše oseointegraciju stimulacijom koštanog metabolizma (127, 135), i da je stvaranje kosti pod uticajem lasera ubrzano, bez negativnih posledica po tkivo ili implantat (127). Histomorfometrijska analiza je u studijama na animalnom modelu otkrila veći BIC (*bone-implant contact*) u zračenim grupama u poređenju sa nezračenim kontrolama i to nakon 3, 6 (156) i 16 (140) postoperativnih nedelja. Ovi

rezultati sugerišu da terapija LMS može stimulisati reparaciju kosti utičući na ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i adheziju (124, 127-129, 132, 135, 140-142, 156).

U ovoj studiji, oseointegracija je evaluirana kroz svoja dva indikatora - sekundarnu stabilnost implantata merenu *RFA* metodom i aktivnost alkalne fosfataze merenu spektrofotometrijski.

Sekundarna stabilnost je klinička refleksija ćelijskih procesa periimplantatnog zarastanja i zbog toga ukazuje na brzinu i stepen oseointegracije (58). Korišćena je *RFA* kao neinvazivna metoda koja se pokazala pouzdanom u proceni stabilnosti implantata, faze zarastanja dentalnog implantata i uspeha terapije dentalnim implantatima (58).

Promene ISQ vrednosti u obe grupe tokom vremena su se dešavale po uobičajenom šablonu, sa najvećim padom stabilnosti u četvrtoj postoperativnoj nedelji, što je reflektovalo proces remodelovanja kosti u kome prvobitna spongiozna kost biva zamenjena lamelarnom kosti (91, 157). Trend većih ISQ vrednosti u test grupi u odnosu na kontrole primećen tokom čitavog šestonedelnog perioda praćenja dosegao je statističku značajnost u petoj postoperativnoj nedelji. Ovaj rezultat bi mogao sugerisati biomodulatorni efekat terapije LMS koji povećava ćelijsku aktivnost i apoziciju kosti, ali koji nije klinički značajan da obezbedi brže i bolje usidrenje implantata.

Statistički značajna regeneracija koštanog tkiva oko laserom zračenih implantata je zabeležena u prvim nedeljama po ugradnji, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (141, 158). Naime, skorašnje animalne studije izveštavaju o poboljšanju biomehaničkih karakteristika koštano-implantatnog spoja pod dejstvom LMS (135, 141, 142). Autori ovih studija se slažu da je jednoseansna (142) ili višeseansna (135, 141) terapija LMS doprinela jačanju spoja implantata sa kosti, što je rezultovalo većim vrednostima obrtnog momenta potrebnog za odvajanje implantata

od kosti (engl. *removal torque*) u regijama koje su prethodno bile tretirane LMS u poređenju sa netretiranim (141, 142).

Jedina klinička studija koja je istraživala stabilnost implantata nakon terapije LMS je studija *García-Morales et al*, koji nisu utvrdili uticaj terapije LMS na stabilnost implantata merenu *RFA* metodom (159). Komentarišući rezultate svog istraživanja, autori primećuju da je potencijalni pozitivni efekat LMS u njihovom istraživanju možda bio maskiran visokim vrednostima primarne stabilnosti koje su zabeležene u bočnoj regiji donje vilice, koja je predstavljala odabrano mesto ugradnje u ovoj studiji *split-mouth* dizajna (159). Imajući u vidu drugačiji protokol zračenja (infracrveni laser sa sedam iradijacija na svakih 48h tokom prvih 14 dana), kao i odabranu regiju ugradnje implantata, poređenje rezultata sa ovom studijom je vrlo teško.

U ovom istraživanju, vrednosti stabilnosti implantata u obe grupe (i zračenih i nezračenih implantata) tokom celog opservacionog perioda od šest nedelja bile su vrlo visoke (≥ 69 ISQ), što je zanimljivo, budući da je regija ugradnje implantata bila posteriorna maksila. Ovakav rezultat bi mogao biti objašnjen samourezujućim dizajnom korišćenih implantata, o čemu govori i skorašnja randomizovana klinička studija (72). Izuzetak od, po pravilu, postignutih velikih vrednosti inicijalne stabilnosti, čine četiri implantata ugrađena obostrano, simetrično u regijama gornjih prvih i drugih molara 68-godišnjeg muškarca, koja nisu imala primarnu stabilnost potrebnu za jednofazni hirurški postupak. Iako je uzrok male primarne stabilnosti ostao nerazjašnjen, činjenica da su sva četiri implantata ugrađena istom pacijentu, govori u prilog sistemskom faktoru uprkos besprekornoj opštoj anamnezi. Uprkos mogućnosti da terapija LMS promoviše oseointegraciju implantata sa lošom primarnom stabilnosti što je pokazano na animalnom modelu (160), ipak je doneta odluka da se implantati pokriju i isključe iz studije, pre svega zbog opasnosti da bi u ranoj fazi zarastanja nedeljna merenja stabilnosti mogla oštetiti slabi koštano-implantatni spoj i uzrokovati gubitak implantata.

Klinički nalaz, stabilnost implantata, poređen je sa prisustvom markera alkalne fosfataze u periimplantatnoj sulkusnoj tečnosti (PIST).

Alkalna fosfataza (ALP) se smatra markerom diferentovanih osteoblasta i njihove aktivnosti, budući da prvobitne progenitorne ćelije ne pokazuju aktivnost ALP, već tek nakon diferencijacije kroz određeni broj ćelijskih deoba eksprimiraju fenotip zrelog osteoblasta koji je u stanju da sintetiše kost (48).

Vrednost aktivnosti ALP u PIST je izražena kao ukupna aktivnost po uzorku, a ne kao koncentracija, zbog toga što bi ekstremno male, teško merljive, količine PIST u kasnijim fazama zarastanja (treća i četvrta postoperativna nedelja) i eventualne, i najmanje greške merenja, imale značajan uticaj na rezultat, u smislu neverodostojnosti oslikavanja kliničke situacije. To je u skladu sa većinom istraživanja, jer se smatra da je takav način interpretacije rezultata bolji i verodostojniji pokazatelj stvarnog stanja (97).

Rezultati prezentovanog istraživanja su pokazali da se aktivnost ALP tokom četvoronedeljnog opservacionog perioda značajno menjala unutar obe grupe. Statistički značajno veća aktivnost ALP u ranoj fazi zarastanja koštanog tkiva (prvoj postoperativnoj nedelji) u odnosu na kasnija merenja primećena je u obe grupe, nezavisno od TLMS. Budući da stvaranje nove kosti počinje već u prvoj nedelji po ugradnji implantata, kada se primarni kontakti kosti i implantata zamenjuju novostvorenim - sekundarnim (82), dobijeni rezultat bi mogao ukazivati na pojačanu osteoplastnu aktivnost, odnosno formiranje kosti u okolini implantata. Sledstveni pad aktivnosti ALP već od druge postoperativne nedelje bi prema tome trebalo da bude znak većeg prisustva diferentovanih ćelija (osteocita) na koštano-implantatnom spoju. Imajući u vidu, međutim, da je previše rano da u ovoj fazi dođe do smanjenja depozicije kosti, ovakvo tumačenje rezultata je malo verovatno. Treba imati u vidu da osim one oslobođene iz osteoblasta tokom procesa remodelovanja kosti, ALP prisutna u PIST može biti i porekla polimorfonuklearnih ćelija usled inflamacije (97) i fibroblasta periodoncijuma tokom periodontalne regeneracije (161). Pojačana

aktivnost ALP u prvoj postoperativnoj nedelji bi se tako, pre svega mogla objasniti posledicom inflamacije, kao fiziološkog odgovora na operativnu traumu, a koja ujedno predstavlja i prvu fazu složenog procesa oseintegracije. Ovom tumačenju u prilog ide sledstveni pad aktivnosti ALP koji je uočen u obe grupe, s tom razlikom što je on statistički značajan u grupi zračenih implantata. Drastičniji pad aktivnosti ALP u ovoj grupi bi odgovarao kraćem trajanju faze inflamacije, odnosno ubrzanom zarastanju pod dejstvom LMS.

Za razliku od kontrolne grupe gde se trend pada aktivnosti ALP nastavlja i u četvrtoj postoperativnoj nedelji, aktivnost ALP se povećala u grupi sa primenjenom postoperativnom TLMS. Iako ovaj porast aktivnosti nije statistički značajan on bi se mogao interpretirati kao indikator pojačane osteoblastne aktivnosti, te tako i poboljšane koštane neoformacije i mineralizacije kao posledice dejstva LMS.

Ovaj rezultat biohemijske analize u skladu je sa kliničkim nalazom statistički značajno veće stabilnosti zračenih implantata u odnosu na nezračene u petoj postoperativnoj nedelji, a koji sugeriše pozitivan uticaj TLMS na oseintegraciju.

Prethodne *in vitro* (124, 128, 129) i animalne (132) studije su pokazale povećanu aktivnost ALP i ubrzano formiranje koštanog matriksa nakon primene TLMS, a koje autori pomenutih studija smatraju indikatorima pojačane osteoblastne aktivnosti kao posledice TLMS. U studiji *Nissan-a et al.* je, s druge strane, uprkos evidentnom pozitivnom efektu postoperativne primene lasera male gustine snage ($4\text{mW}/\text{cm}^2$) na zarastanje koštanih defekata uticajem na transport kalcijuma tokom sinteze nove kosti, primećeno da TLMS nije imala uticaja na aktivnost ALP (138).

Generalizovanje rezultata ove studije je izuzetno teško, budući da je njen ishod posledica sadejstva više faktora: gustine kosti, makrodizajna implantata i protokola zračenja. U literaturi ne postoji konsenzus u vezi sa protokolom terapije LMS. Optimalni parametri: talasna dužina, gustina energija i sami protokol zračenja još uvek su neutvrđeni. U ovoj studiji su korišćeni implantati samouredujućeg

makrodizajna koji se preporučuju za kost manje gustine prisutne u bočnoj regiji gornje vilice, a u cilju postizanja zadovoljavajuće stabilnosti implantata (72). S druge strane, korišćenjem implantata koji nemaju samourezujući dizajn u spongioznoj kosti teško se obezbeđuje adekvatna primarna stabilnost, pa bi se zato kod oseointegracije ovakvih implantata mogao očekivati izrazitiji efekat primene terapije LMS, budući da postoji mogućnost da je uticaj LMS u ovoj studiji ostao maskiran efektom samourezujućeg dizajna implantata.

ZAKLJUČCI

Na osnovu primenjene metodologije i dobijenih rezultata preduzetog kliničkog istraživanja, mogu se doneti sledeći zaključci:

1) Primena lasera male snage u ranom postoperativnom periodu pozitivno utiče na stabilnost dentalnih implantata u petoj postoperativnoj nedelji, mada je taj efekat primećen tokom celog opservacionog perioda od šest nedelja, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na laserom nezračene implantate;

2) Primena lasera male snage u ranom postoperativnom periodu utiče na povećanje aktivnosti alkalne fosfataze u periimplantatnom sulkusu dentalnih implantata u četvrtoj postoperativnoj nedelji;

3) Primena lasera male snage nema uticaja na rani uspeh oseintegracije dentalnih implantata - rani uspeh terapije je bio 100% i u eksperimentalnoj i u kontrolnoj grupi;

4) Ugradnja samourezujućih implantata u kost male gustine može biti predvidljiva terapijska procedura sa visokim procentom rane uspešnosti bez obzira na primenjenu terapiju laserom male snage.

LITERATURA

1. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001; 10(Suppl.2):S96-101.
2. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981; 10(6):387-416.
3. Nevins M, Langer B. The successful application of osseointegrated implants to the posterior jaw: a long-term retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993; 8:423-8.
4. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen J. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977; 16(Suppl):1-132.
5. Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Tissue integrated prostheses. In: *Osseointegration in Clinical Dentistry*. Chicago: Quintessence; 1985. p. 11-76.
6. Mavrogenis AF, Dimitriou R, Parvizi J, Babis GC. Biology of implant osseointegration. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2009;9(2):61-71.
7. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. I. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 1997;42:247-54.
8. Kawasaki K, Shimizu N. Effects of Low-Energy Laser Irradiation on Bone Remodeling During Experimental Tooth Movement in Rats. *Lasers in Surgery and Medicine* 2000;26:282-91.

9. Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, Tunér J, Ljunggren AE. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from joint disorders. *Australian Journal of Physiotherapy* 2003;49:107-11.
10. Marković A, Todorović Lj. The influence of low-power laser on healing of bone defects after periapical surgery: a clinical study. *J Oral Laser Applications* 2006; 6:163-8.
11. Marković A. Uticaj lasera male snage na zarastanje koštanih defekata. Doktorska disertacija. Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2000.
12. Aboelsaad NS, Soory M, Gadalla LM, Ragab LI, Dunne S, Zalata KR, et al. Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study). *Lasers Med Sci* 2009; 24:387-95.
13. Hübler R, Blando E, Gaião L, Kreisner PE, Post LK, Xavier CB, et al. Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. *Lasers Med Sci* 2010; 25:213-9.
14. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low power laser. *Lasers Surg Med* 1987; 7:36-45.
15. Miloro M, Miller JJ, Stoner JA. Low-level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(2):168-76.
16. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988; 17:388-91.

17. Karu T. Photobiology of low power laser effects. *Health and Physics* 1989; 56:691-704.
18. Nguyen DT, Orgill DP, Murphy GF. The Pathophysiologic Basis for Wound Healing and Cutaneous Regeneration. In: *Biomaterials For Treating Skin Loss*. Boca Raton/Cambridge: CRC Press (US) & Woodhead Publishing (UK/Europe) 2009. p. 25-27.
19. Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Osseointegration - communication of cells. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23(10): 1127-35.
20. Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Pearcy MJ. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue Engineering* 2005; 11: 1-18.
21. Lee MH, Oh N, Lee SW, Leesungbok R, Kim SE, Yun YP, et al. Factors influencing osteoblast maturation on microgrooved titanium substrata. *Biomaterials* 2010; 31: 3804-15.
22. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 2004;15:381-92.
23. Murdoch C, Giannoudis A, Lewis CE. Mechanisms regulating the recruitment of macrophages into hypoxic areas of tumors and other ischemic tissues. *Blood* 2004; 104: 2224-34.
24. Hitchon C, Wong K, Ma G, Reed J, Lyttle D, El-Gabalawy H. Hypoxia-induced production of stromal cell-derived factor 1 (CXCL12) and vascular endothelial growth factor by synovial fibroblasts. *Arthritis& Rheumatism* 2002; 46: 2587-97.

25. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors* 2004; 22: 233-41.
26. Wierzbicka-Patynowski I, Schwarzbauer JE. The ins and outs of fibronectin matrix assembly. *Journal of Cell Science* 2003; 116(Pt 16): 3269-76.
27. Corselli M, Chen CW, Crisan M, Lazzari L, Péault B. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2010; 30: 1104-9.
28. Lamagna C, Berger G. The bone marrow constitutes a reservoir of pericyte progenitors. *Journal of Leukocyte Biology* 2006; 80: 677-81.
29. Compton JT, Lee FY. A Review of Osteocyte Function and the Emerging Importance of Sclerostin. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 2014;96(19):1659-68 (C2020).
30. Bosshardt DD, Salvi GE, Huynh-Ba G, Ivanovski S, Donos N, Lang NP. The role of bone debris in early healing adjacent to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in man. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22: 357-64.
31. Buser D, Brogini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res* 2004;83:529-33.
32. Menezes GC, Elias CN, Attias M, Silva-Filho FC. Osteoblast Adhesion onto Titanium Dental Implants. *Acta Microscopica* 2003;12(1):13-20.

33. Omar OM, Lennerås ME, Suska F, Emanuelsson L, Hall JM, Palmquist A, Thomsen P, et al. The correlation between gene expression of proinflammatory markers and bone formation during osseointegration with titanium implants. *Biomaterials* 2011;32:374-386.
34. Degidi M, Scarano A, Petrone G, Piattelli A. Histologic analysis of clinically retrieved immediately loaded titanium implants: a report of 11 cases. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003; 5: 89-93.
35. Martin T, Gooi JH, Sims NA. Molecular mechanisms in coupling of bone formation to resorption. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* 2009; 19: 73-88.
36. Blanchard F, Duplomb L, Baud'huin M, Brounais B. The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2009;20:19-28.
37. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2008; 473: 139-46.
38. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Frontiers in Bioscience* 2011; 16: 21-30.
39. Dossa T, Arabian A, Windle JJ, Dedhar S, Teitelbaum SL, Ross FP, et al. Osteoclast-specific inactivation of the integrin-linked kinase (ILK) inhibits bone resorption. *Journal of Cellular Biochemistry* 2010; 110: 960-7.

40. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2008; 19: 444-51.
41. Du Z, Ivanovski S, Hamlet SM, Feng JQ, Xiao Y. The Ultrastructural Relationship Between Osteocytes and Dental Implants Following Osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res*. Article first published online: 10 JUL 2014 doi: 10.1111/cid.12257
42. Knothe Tate ML. Whither flows the fluid in bone? An osteocyte's perspective. *Journal of Biomechanics* 2003; 36: 1409-24.
43. Temiyasathit S, Jacobs CR. Osteocyte primary cilium and its role in bone mechanotransduction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2010; 1192: 422-8.
44. Colopy SA, Benz-Dean J, Barrett JG, Sample SJ, Lu Y, Danova NA, et al. Response of the osteocyte syncytium adjacent to and distant from linear microcracks during adaptation to cyclic fatigue loading. *Bone* 2004; 35: 881-91.
45. Santos A, Bakker AD, Klein-Nulend J. The role of osteocytes in bone mechanotransduction. *Osteoporosis International* 2009; 20: 1027-31.
46. Moss DW. Perspectives in alkaline phosphatase research. *Clin Chem* 1992; 38: 2486-92.
47. Golub EE, Boesze-Battaglia K. The role of alkaline phosphatase in mineralization. *Curr Opin Orthop* 2007; 18: 444-8.

48. Owen TA, Aronow M, Shalhoub V, Barone LM, Wilming L, Tassinari MS, et al. Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* 1990; 143:420-30.
49. Nogueira GT, Mesquita-Ferrari RA, Souza NHC, Artilheiro PP, Albertini R, Bussadori SK, Fernandes KPS. Effect of low-laser therapy on proliferation, differentiation, and adhesion of steroid-treated osteoblasts. *Las Med Sci* 2012; 27(6): 1189-93.
50. Pekovits K, Wildburger A, Payer M, Hutter H, Jakse N, Dohr G. Evaluation of Graft Cell Viability - Efficacy of Piezoelectric Versus Manual Bone Scraper Technique. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70:154-162.
51. Mohamadnia AR, Shahbazkia HR, Sharifi S, Shafaei I. Bone-specific alkaline phosphatase as a good indicator of bone formation in sheepdogs. *Comp Clin Pathol* 2007; 16: 265-70.
52. Komnenou A, Karayannopoulou M, Polizopoulou ZS, Constantinidis TC, Dessiris A. Correlation of serum alkaline phosphatase activity with the healing process of long bone fractures in dogs. *Vet Clin Path* 2005; 34: 35-8.
53. Delmas P. Biochemical markers of bone turnover. Methodology and clinical use in osteoporosis. *Am J Med* 1991; 91(Suppl 5B):59S-63S.
54. Piattelli A, Scarano A, Piattelli M. Detection of alkaline and acid phosphatases around titanium implants: a light microscopical and histochemical study in rabbits. *Biomaterials* 1995;16(17):1333-8.

55. von Wilmsky C, Moest T, Nkenke E, Stelzle F, Schlegel KA. Implants in bone: Part II. Research on implant osseointegration - Material testing, mechanical testing, imaging and histoanalytical methods. *Oral Maxillofac Surg* 2013 Feb 21. [Epub ahead of print]
56. Natali AN, Carniel EL, Pavan PG: Investigation of viscoelastoplastic response of bone tissue in oral implants press fit process. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91:868-75.
57. Simunek A, Kopecka D, Brazda T, Strnad I, Capek L, Slezak R. Development of implant stability during early healing of immediately loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27(3):619-27.
58. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont* 1998; 11(5):491-501.
59. Albrektsson T, Zarb GA, Worthington DP, Eriksson R. The long-term efficacy of currently used dental implants. A review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986; 1:11-25.
60. Salvi GE, Lang NP. Diagnostic parameters for monitoring peri-implant conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; 19(Suppl):116-27.
61. Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2006; 17:244-50

62. Elias CN. Factors Affecting the Success of Dental Implants. In: Turkeyilmaz I, ed. *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice* [Internet]. Rijeka: InTech; 2011 [cited 2014 Aug 25]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/implant-dentistry-a-rapidly-evolving-practice/factors-affecting-the-success-of-dental-implants>
63. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: factors of influence and evaluation. *Interv Med Appl Sci.* 2013;5:162-7.
64. Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 1981; 52:155-70.
65. Orsini E, Giavaresi G, Trire A, Ottani V, Salgarello S. Dental implant thread pitch and its influence on the osseointegration process: an in vivo comparison study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012; 27:383-92.
66. O'Sullivan D, Sennerby L, Meredith N. Influence of implant taper on the primary and secondary stability of osseointegrated titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15:474-80.
67. Toyoshima T, Tanaka H, Ayukawa Y, Howashi M, Masuzaki T, Kiyosue T, et al. Primary Stability of a Hybrid Implant Compared with Tapered and Cylindrical Implants in an Ex Vivo Model. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014 Feb 9. doi: 10.1111/cid.12205. [Epub ahead of print]
68. Andersson P, Verrocchi D, Viinama"ki R, Sennerby L. A one year clinical, radiographic and RFA study of Neoss implants. *Appl Osseointegration Res* 2008;6:23-6.

69. Lekholm O, Zarb GA. Patient selection and preparation. In: Branemark PI et al. Editors: Tissue integrated prostheses - Osseointegration in clinical dentistry. Chicago, Quintessence, 1985;199-209.
70. Jimbo R, Tovar N, Anchieta RB, Machado LS, Marin C, Teixeira HS, Coelho PG. The combined effects of undersized drilling and implant macrogeometry on bone healing around dental implants: an experimental study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014; xxx: xxx-xxx., article in press. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijom.2014.03.017>
71. Summers RB. A new concept in maxillary implant surgery: the osteotome technique. *Compendium* 1994;15(2):152, 154-156, 158 passim; quiz 162.
72. Markovic A, Calvo-Guirado JL, Lazic Z, Gomez-Moreno G, Calasan D, Guardia J, Colic S, Aguilar-Salvatierra A, Gacic B, Delgado-Ruiz R, Janjic B, Misic T. Evaluation of Primary Stability of Self-Tapping and Non-Self-Tapping Dental Implants. A 12-Week Clinical Study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013; 15(3): 341-9.
73. Karl M, Graef F, Heckmann S, Krafft T. Parameters of resonance frequency measurement values: a retrospective study of 385 ITI dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2008;19:214-8.
74. Simunek A, Strnad J, Kopecka D, Brazda T, Pilathadka S, Chauhan R et al. Changes in stability after healing of immediately loaded dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25(6):1085-92.
75. Nedir R, Bischof M, Szmukler-Moncler S, Bernard J-P, Samson J. Predicting osseointegration by means of implant primary stability. A resonance-frequency analysis study with delayed and immediately loaded ITI SLA implants. *Clin Oral Impl Res* 2004;15:520-8.

76. Sim CPC, Lang NP. Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell™mentor during implant tissue integration: I. Instrument positioning, bone structure, implant length. Clin Oral Impl Res 2010;21:598-604.

77. Zhou W, Han C, Yunming L, Li D, Song Y, Zhao Y. Is the osseointegration of immediately and delayed loaded implants the same?--comparison of the implant stability during a 3-month healing period in a prospective study. Clin Oral Implants Res 2009;20(12):1360-6.

78. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter JE. Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscenced defect sites: a clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 1992; 7:233-45.

79. Lang NP, Brägger U, Hämmerle CHF, Sutter F. Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration. I. Rationale, clinical procedures and 30-month results. Clin Oral Impl Res 1994; 5:154-63.

80. Hämmerle CHF, Lang NP. Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided tissue regeneration and bioresorbable materials. Clin Oral Impl Res 2001; 12:9-18.

81. Glauser R, Ree A, Lundgren A, Gottlow J, Hämmerle CH, Schärer P. Immediate occlusal loading of Branemark implants applied in various jawbone regions: a prospective, 1-year clinical study. Clin Oral Impl Res 2001; 3:204-13.

82. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants: a model study in the dog. Clin Oral Impl Res 2003; 14:251-62.

83. Atsumi M, Park SH, Wang HL. Methods used to assess implant stability: Current status. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007;22:743-54.
84. Balshi SF, Allen FD, Wolfinger GJ, Balshi TJ. A resonance frequency analysis assessment of maxillary and mandibular immediately loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20(4):584-94.
85. Huwiler MA, Pjetursson BE, Bosshardt DD, Salvi GE, Lang NP. Resonance frequency analysis in relation to jawbone characteristics and during early healing of implant installation. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:275-80.
86. Han J, Lulic M, Lang NP. Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell mentor during implant tissue integration: II. Implant surface modifications and implant diameter. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(6):605-11.
87. Strnad J, Urban K, Povysil C, Strnad Z. Secondary stability assessment of titanium implants with an alkali-etched surface: a resonance frequency analysis study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23(3):502-12.
88. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Implants Res* 1996;7:261-7.
89. Sennerby L, Meredith N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. *Periodontology* 2000, 2008;47:51-66.

90. Balleri P, Cozzolino A, Ghelli L, Momicchioli G, Varriale A. Stability measurements of osseointegrated implants using Osstell in partially edentulous jaws after 1 year of loading: a pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002; 4(3):128-32.

91. Bischof M, Nedir R, Szmukler-Moncler S, Bernard JP, Samson J. Implant stability measurement of delayed and immediately loaded implants during healing. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15(5): 529-39.

92. Friberg B, Sennerby L, Meredith N, Lekholm U. A comparison between cutting torque and resonance frequency measurements of maxillary implants. A 20-month clinical study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999; 28(4):297-303.

93. Carranza FA, Newman GS, Takei HH, editors. *Carranza's Clinical Periodontology*. 9th ed. Los Angeles, California: Saunders; 2002.

94. Wennstrom JL, Ekestubbe A, Grondahl K, Karlsson S, Lindhe J. Oral rehabilitation with implant-supported fixed partial dentures in periodontitis-susceptible subjects. A 5-year prospective study. *J Clin Periodontol* 2004;31(9):713-724.

95. Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13:637-43.

96. Nomura T, Ishii A, Shimizu H, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases-1 and -8, and collagenase activity levels in peri-implant crevicular fluid after implantation. *Clin Oral Implants Res* 2000;11(5):430-440.

97. Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belser UC. Elastase, alpha2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without periimplantitis. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13:227–233.

98. Tümer C, Aksoy Y, Güncü GN, Nohutçu RM, Kiliñç K, Tözüm TF. Possible impact of inflammatory status on C-telopeptide pyridinoline cross-links of type I collagen and osteocalcin levels around oral implants with peri-implantitis: a controlled clinical trial. *J Oral Rehabil* 2008; 35:934-9.

99. Güncü GN, Tözüm TF, Güncü MB, Yamalik N, Tümer C, Karabulut E, et al. Myeloperoxidase as a measure of polymorphonuclear leukocyte response in inflammatory status around immediately and delayed loaded dental implants: a randomized controlled clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008;10:30-9.

100. Monjo M, Lamolle SF, Lyngstadaas SP, Rønold HJ, Ellingsen JE. In vivo expression of osteogenic markers and bone mineral density at the surface of fluoride-modified titanium implants. *Biomaterials* 2008;29(28):3771-80.

101. Boutros SM, Michalowicz BS, Smith QT, Aeppli DM. Crevicular fluid enzymes from endosseous implants and natural teeth. *Int J Oral and Maxillofac Implants* 1996;11:322-30.

102. Tözüm TF, Akman AC, Yamalik N, Tulunoglu I, Turkyilmaz I, Karabulut E et al. Analysis of the inflammatory process around endosseous dental implants and natural teeth: myeloperoxidase level and nitric oxide metabolism. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007;22(6):969-79.

103. Niimi A, Ueda M. Crevicular fluid in the osseointegrated implant sulcus: A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1995;10:434-6.

104. Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B, Wagner W. Hard and soft tissue reactions to ITI screw implants: 3-year longitudinal results of a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:749-57.
105. Günday S, Topçu AO, Güncü GN, Akman AC, Karabulut E, Yamalik N. Analysis of potential factors affecting peri-implant sulcus fluid (PISF) volume. *Clinical dentistry and research* 2011;35(1):12-24
106. Gunday S, Topcu AO, Guncu GN, Akman AC, Karabulut E, Yamalik N. Analysis of potential factors affecting peri-implant sulcus fluid (PISF) volume. *Clin Den Res* 2011; 10(3): 166-73.
107. Last KS, Smith S, Pender N. Monitory of IMZ titanium endosseous dental implants by glycosaminoglycan analysis of peri-implant sulcus fluid. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1995; 10(1): 58-60.
108. Slotte C, Lennerås M, Göthberg C, Suska F, Zoric N, Thomsen P, et al. Gene expression of inflammation and bone healing in peri-implant crevicular fluid after placement and loading of dental implants. A kinetic clinical pilot study using quantitative real-time PCR. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012;14(5):723-36.
109. Kaklamanos EG, Tsakilis L. A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *J Int Acad Periodontol* 2002; 4: 49-59.
110. Tözüm TF, Hatipoglu H, Yamalik N, Gürsel M, Alptekin NO, Ataoğlu T et al. Critical steps in electronic volume quantification of gingival crevicular fluid: the potential impact of evaporation, fluid retention, local conditions and repeated measurements. *J Periodontol Res* 2004; 39: 344-357.

111. Khoury SB, Thomas L, Walters JD, Sheridan JF, Leblebicioglu B. Early wound healing following one-stage dental implant placement with and without antibiotic prophylaxis: a pilot study. *J Periodontol* 2008; 79(10): 1904-12.
112. AlGhamdi KM, Kumar A, Moussa NA. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med Sci* 2012;27:237-49
113. Hrnjak M, Kuljic-Kapulica N, Budisin A, Giser A. Stimulatory effect of low-power density He-Ne laser radiation on human fibroblasts in vitro. *Vojnosanit Pregl* 1995; 52:539-46
114. Mester E, Spiry T, Sjende B. Effect of low laser rays in wound healing. *Bulletin de la Societe Internationale de Chirurgie* 1973; 2:169-81.
115. Tumilty S, Munn J, McDonough S, Hurley DA, Basford JR, Baxter GD. Low level laser treatment of tendinopathy: a systematic review with meta-analysis. *Photomed Laser Surg* 2010; 28:3-16
116. Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RAB, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy on the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet* 2009; 374:1897-908
117. Silveira PCL, Silva LA, Freitas TP, Latini A, Pinho RA. Effects of low-power laser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci* 2011; 26:125-31

118. Karu T, Pyatibrat LV, Kalendo GS. Irradiation with He-Ne laser increases ATP levels in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B: Biol* 1995;27:219-23.
119. Hu WP, Wang JJ, Yu CL, Lan CCE, Chen GS, Yu HS. Helium-Neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. *J Investigat Dermatol* 2007;127:2048-57
120. Karu TI. Primary and secondary mechanisms of the action of monochromatic visible and near infrared radiation on cells. In: *The science of low-power laser therapy*. Amsterdam: Gordon and Breach Science; 1998
121. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *Journal of Biomedical Science* 2009;16:4.
122. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *J Invest Med* 2000;48:312-26
123. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *J Invest Med* 2000;48:312-26
124. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone* 1998; 22:347-54.
125. Dörtbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Impl Res* 2000; 11:540-5.
126. Guzzardella GA, Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Giardino R. Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study. *Lasers Med Sci* 2002; 17(3):216-20.

127. Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanæs HR, Mustafa K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials* 2005; 26:3503-9.
128. Abramovitch-Gottlib L, Gross T, Naveh D, Geresh S, Rosenwaks S, Bar I, et al. Low level laser irradiation stimulates osteogenic phenotype of mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix. *Lasers Med Sci* 2005; 20:138-46.
129. Stein E, Koehn J, Sutter W, Wendtlandt G, Wanschitz F, Thurnher D, et al. Initial effects of low-level laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. *Wien Klin Wochenschr* 2008; 120(3-4):112-7.
130. Petri AD, Teixeira LN, Crippa GE, Beloti MM, de Oliveira PT, Rosa AL. Effects of low-level laser therapy on human osteoblastic cells grown on titanium. *Braz Dent J* 2010;21(6):491-8.
131. Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y, Kaka G. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts-an in vitro study. *Lasers Med Sci* 2012;27(2):423-30.
132. da Silva APRB, Petri AD, Crippa GE, Stuani AS, Stuani AS, Rosa AL, Stuani MBS. Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *Lasers Med Sci* 2012;27:777-83
133. Luger E, Rochkind S, Wollmann Y, Kogan G, Dekel S. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1998; 22:97-102.

134. Nicolau RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MTT, dos Reis LM, Zangaro RA. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 2003;18:89-94.
135. Khadra M, Rønold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanæs HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Impl Res* 2004; 15:325-32.
136. Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(6):693-700.
137. Marković A, Koković V, Todorović Lj. The influence of low-power laser on healing of bone defects: an experimental study. *J Oral Laser Applications* 2005; 5:169-72.
138. Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I. Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *J Oral Rehabil* 2006; 33(8):619-24.
139. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39(10):788-96.
140. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation: an experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18:517-24.

141. Maluf AP, Maluf RP, da Rocha Brito C, França FMG, de Brito Jr. RB. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. *Lasers Med Sci* 2010; 25:693-8.
142. Boldrini C, de Almeida JM, Fernandes LA, Ribeiro FS, Garcia VG, Theodoro LH, Pontes AE. Biomechanical effect of one session of low-level laser on the bone-titanium implant interface. *Lasers Med Sci* 2013;28(1):349-52.
143. Weber HP, Morton D, Gallucci GO, Rocuzzo M, Cordaro L, Grütter L. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding loading protocols. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24(Suppl):180–183.
144. Block MS. Oral and maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011; 26(Suppl):107-8
145. Franchi M, Orsini E, Triré A, Quaranta M, Martini D, Piccari GG, et al. Osteogenesis and morphology of the peri-implant bone facing dental implants. *The Scientific World J* 2004; 4:1083-95.
146. Salonen MA, Oikarinen K, Virtanen K, Pernu H. Failures in the osseointegration of endosseous implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:92-7.
147. Jemt T, Stenport V, Friberg B. Implant treatment with fixed prostheses in the edentulous maxilla. Part I: Implants and biologic response in two patient cohorts restored between 1986 and 1987 and 15 years later. *Int J Prosthodont* 2011;24:345-55.

148. Jemt T, Stenport V. Implant treatment with fixed prostheses in the edentulous maxilla. Part II: Prosthetic technique and clinical maintenance in two patient cohorts restored between 1986 and 1987 and 15 years later. *Int J Prosthodont* 2011;24:356-62.
149. Stanford C, editor. Effects of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22(5):691-5
150. Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH, et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant - immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med* 2007; 39(5):441-50.
151. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, da Silva NS, Salgado MA. Infrared laser photobiomodulation (λ 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg* 2007; 25(2):96-101.
152. Guzzardella GA, Torricelli P, Nicoli-Aldini N, Giardino R. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an in vivo comparative study. *Clin Oral Impl Res* 2003; 14:226-32.
153. Dörtbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. *Clin Oral Impl Res* 2002; 13:288-92.
154. German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activity in biological fluids. *J Clinical Chemistry, Clinical Biochemistry* 1972; 10:182-92

155. Buser D, Weber HP, Lang NP. Tissue integration of nonsubmerged implants. 1-year results of a prospective study with 100 ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants. *Clin Oral Implants Res* 1990; 1: 33-40.
156. Pereira CL, Sallum EA, Nociti FH Jr, Moreira RW. The effect of low-intensity laser therapy on bone healing around titanium implants: a histometric study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24(1): 47-51.
157. Huwiler MA, Pjetursson BE, Bosshardt DD, Salvi GE, Lang NP. Resonance frequency analysis in relation to jawbone characteristics and during early healing of implant installation. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18(3): 275-80.
158. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Duarte J, Cristinamartins M. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. *Photomed Laser Surg* 2005; 23(1): 27-31.
159. Garcia-Morales JM, Tortamano-Neto P, Todescan FF, de Andrade JC, Jr., Marotti J, Zezell DM. Stability of dental implants after irradiation with an 830-nm low-level laser: a double-blind randomized clinical study. *Lasers Med Sci* 2012; 27(4): 703-11.
160. Campanha BP, Gallina C, Geremia T, Loro RC, Valiati R, Hubler R, de Oliveira MG. Low-level laser therapy for implants without initial stability. *Photomed Laser Surg* 2010; 28(3): 365-9.
161. Groeneveld MC, Van den Bos T, Everts V, Beertsen W. Cell-bound and extracellular matrix-associated alkaline phosphatase activity in rat periodontal ligament. *Experimental Oral Biology Group. J Periodontal Res* 1996; 31(1): 73-9.

BIOGRAFIJA

Dr Borka Mandić je rođena 08.03.1981. godine u Nikšiću. Osnovnu školu i Prvu beogradsku gimnaziju završila je kao dobitnik Vukove diplome. Diplomirala je 2007. godine na Stomatološkom fakultetu u Beogradu sa prosečnom ocenom 8,93. Nakon pripravničkog staža obavljenog na klinikama Stomatološkog fakulteta u Beogradu, položila je stručni ispit 2008. godine.

Prvu godinu doktorskih studija iz naučne oblasti Oralna hirurgija upisala je školske 2008/2009. godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Položila je sve ispite predviđene planom i programom akademskih doktorskih studija sa prosečnom ocenom 9,75.

Dr Borka Mandić je od 2007. godine aktivan učesnik brojnih skupova nacionalnog i međunarodnog značaja gde je prezentovala 9 naučnih radova (usmene i poster prezentacije). Objavila je dva rada, od kojih je jedan u referentnom časopisu sa impakt faktorom. Učesnik je dva naučnoistraživačka projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj. Govori engleski i francuski, a služi se italijanskim jezikom.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а БОРКА МАНДИЋ

број индекса 2008/04

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ ЛАСЕРА МАЛЕ СНАГЕ У РАНОМ ПОСТОПЕРАТИВНОМ
ПЕРИОДУ НА ОСЕОИНТЕГРАЦИЈУ ИМПЛАНТАТА

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора БОРКА МАНДИЋ

Број индекса 2008/04

Студијски програм докторске академске студије, модул: Мултидисциплинарни приступ решавању базичних и клиничких проблема у стоматологији

Наслов рада УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ ЛАСЕРА МАЛЕ СНАГЕ У РАНОМ ПОСТОПЕРАТИВНОМ ПЕРИОДУ НА ОСЕОИНТЕГРАЦИЈУ ИМПЛАНТАТА

Ментор проф. др Алекса Марковић

Потписани/а Борка Мандић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ ЛАСЕРА МАЛЕ СНАГЕ У РАНОМ ПОСТОПЕРАТИВНОМ ПЕРИОДУ НА ОСЕОИНТЕГРАЦИЈУ ИМПЛАНТАТА

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, _____
